

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN - TARAPOTO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE AGROSILVO PASTORIL
ESCUELA PROFESIONAL DE AGRONOMÍA



TESIS

**“ESTUDIO DE LA DIVERSIDAD DE HONGOS MICORRÍZICOS
ARBUSCULARES NATIVOS Y SU POTENCIAL MICORRÍZICO EN
EL CULTIVO DE CAFÉ (*Coffea arabica* L.) EN DIFERENTES
CONDICIONES AGROECOLÓGICAS DE LA REGIÓN SAN MARTÍN”**

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

INGENIERO AGRÓNOMO

PRESENTADO POR LA BACHILLER:

LAURA CORAL RUÍZ

TARAPOTO - PERÚ

2015

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN-TARAPOTO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE AGROSILVO PASTORIL
ESCUELA PROFESIONAL DE AGRONOMÍA



TESIS

**“ESTUDIO DE LA DIVERSIDAD DE HONGOS MICORRÍZICOS
ARBUSCULARES NATIVOS Y SU POTENCIAL MICORRÍZICO
EN EL CULTIVO DE CAFÉ (*Coffea arabica* L.) EN DIFERENTES
CONDICIONES AGROECOLÓGICAS DE LA REGIÓN SAN
MARTÍN”**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:
INGENIERO AGRÓNOMO**

**PRESENTADO POR LA BACHILLER:
LAURA CORAL RUÍZ**

**TARAPOTO – PERÚ
2015**

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN-TARAPOTO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE AGROSILVO PASTORIL
ESCUELA PROFESIONAL DE AGRONOMÍA

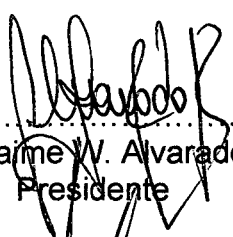
TESIS


**“ESTUDIO DE LA DIVERSIDAD DE HONGOS MICORRÍZICOS
ARBUSCULARES NATIVOS Y SU POTENCIAL MICORRÍZICO
EN EL CULTIVO DE CAFÉ (*Coffea arabica* L.) EN DIFERENTES
CONDICIONES AGROECOLÓGICAS DE LA REGIÓN SAN
MARTÍN”**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:
INGENIERO AGRÓNOMO**

**PRESENTADO POR LA BACHILLER:
LAURA CORAL RUÍZ**

COMITÉ DE TESIS


.....
Ing. Dr. Jaime W. Alvarado Ramírez
Presidente


.....
Ing. M Sc. Guillermo Vázquez Ramírez
Secretario


.....
Ing. M Sc. Elías Torres Flores
Miembro


.....
Blgo. Dr. Winston Franz Ríos Ruiz
Asesor

DEDICATORIA

A DIOS quien ha sido mi luz, mi fortaleza y compañía a lo largo de mis estudios, quien me enseñó a superar muchos obstáculos que la vida nos presenta y que gracias a ello aprendí a ser cada día más fuerte.

A mis padres CÉSAR CORAL RAMÍREZ Y AYLEN RUÍZ REÁTEGUI, por todo el apoyo brindado y sobre todo al inmenso amor y comprensión que me han dado en todo este tiempo, de los cuales me siento agradecida y muy feliz porque no hubiera podido tener mejores padres de los que ya tengo y que en mi vida representan mi inspiración y motivo para seguir adelante.

A mi hermana CARLA CORAL RUÍZ a quien quiero muchísimo y con quien compartí la mejor etapa de mi vida, mi niñez. Gracias por el cariño, la compañía y el apoyo brindado.

AGRADECIMIENTOS

- Gracias a **Dios**, por darme salud y fortaleza en todo momento, por rodearme de personas maravillosas que contribuyeron de una u otra forma en mi vida universitaria.
- A la Universidad Nacional de San Martín, Facultad de Ciencias Agrarias y todos mis docentes quienes me formaron con mucha dedicación y esmero, para la vida profesional.
- Al fondo Nacional de Ciencia y Tecnología- FONDECYT por financiar el presente trabajo de investigación en el marco del proyecto "Biorestauración de suelos con Hongos Micorrízicos nativos en fincas con café arábicos (*Coffea arabica*. L) en la amazonía peruana.
- Al ingeniero **Luis Alberto Arévalo López** investigador principal del proyecto "biorestauración de suelos con hongos micorrízicos nativos en fincas con cafés arábicos (*coffea arabica*. L) en la Amazonía Peruana"
- Al Ingeniero **Geomar Vallejos Torres** investigador del proyecto, por darme la oportunidad de realizar la tesis de pregrado, por el apoyo brindado y sobre todo por confiar en mí y en mis capacidades.
- A mi asesor **Dr. Winston Franz Ríos Ruiz (UNSM-T)**, Co-investigador del proyecto y al co-asesor **MSc. Mike Anderson Corazon Guivin (IIAP)** por el asesoramiento de este trabajo de investigación, gracias por compartir sus conocimientos, tiempo, dedicación, paciencia y su amistad, para poder lograr este objetivo.
- A mis amigos del IIAP **Omar Chinchay Rubio** y en especial a **Karen Marilú del Águila Parillo** gracias por su amistad sincera y su compañía agradable.

ÍNDICE

	Página
I. INTRODUCCIÓN.....	01
II. OBJETIVOS.....	03
III. REVISIÓN DE LITERATURA.....	04
3.1. Aspectos Generales del Cultivo de Café:.....	04
3.1.1. Origen y distribución.....	04
3.1.2. Descripción morfológica.....	04
3.1.3. Variedades de café arábico.....	05
3.1.4. Taxonomía.....	06
3.2. Aspectos Generales Sobre Las Micorrizas.....	07
3.2.1. Micorrizas Arbusculares.....	07
3.2.2. Clasificación de las micorrizas.....	08
3.2.3. Simbiosis Micorrízica.....	09
3.2.4. Principales géneros.....	10
3.2.5. Importancia de las micorrizas en la agricultura.....	14
3.2.6. Beneficios de las micorrizas.....	15
3.2.7. Factores ecológicos relacionados con las micorrizas.....	17
IV. MATERIALES Y MÉTODO.....	19
4.1. MATERIALES Y EQUIPOS.....	19
4.2. METODOLOGIA.....	19
4.2.1. Área de estudio	19
4.2.2. Colecta y Codificación de muestras biológicas.....	21
4.2.3. Área de trabajo.....	22
4.2.4. Selección y conservación de muestras biológicas.....	23

4.2.5.	Aislamiento de esporas.....	24
4.2.6.	Cuantificación de esporas e identificación de morfotipos.....	25
4.2.7.	Análisis físico y químico del suelo.....	26
4.2.8.	Tinción de raíces.....	27
4.2.9.	Estimación del grado de colonización micorrízica.....	28
4.2.10.	Diseño experimental.....	28
4.2.11.	Análisis de datos.....	30
V.	RESULTADOS.....	34
5.1.	Identificación de morfotipos.....	34
5.2.	Densidad de esporas y riqueza de morfotipos.....	38
5.3.	Abundancia relativa (AR) y frecuencia de aislamiento (FA).....	39
5.4.	Porcentaje de colonización.....	40
5.5.	Correlación entre el porcentaje de micorrización (%M) y parámetros ecológicos y del suelo.....	45
VI.	DISCUSIONES.....	46
VII.	CONCLUSIONES.....	54
VIII.	RECOMENDACIONES.....	55
IX.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	56
	RESUMEN	
	SUMMARY	

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 01 Esquema de tipos de micorrizas.....	7
Figura 02 <i>Acaulospora</i> sp. A. Espora completa. B. Detalle de la composición de la pared, incluida la cicatriz. C. Espora completa unida al sáculo. Tomado y modificado de (PEÑA <i>et al.</i> 2006, citado por Vega, 2011).....	11
Figura 03: <i>Gigaspora</i> sp. A. Espora completa con célula suspensoria; B. Detalle de la célula bulbo; C. Reacción de Melzer positiva observada en forma parcial en la pared externa de la espora. Tomado y modificado de (PEÑA <i>et al.</i> 2006, citado por Vega, 2011).....	12
Figura 04 <i>Glomus</i> sp. A. Grupo laxo de esporas con una capa de mucilago externo. B. Esporas con hifas sin septas. C. Detalle de la conexión hifal y la composición de la pared esporal. Tomado y modificado de (PEÑA <i>et al.</i> 2006, citado por Vega, M.V.M. 2011).....	13
Figura 05 <i>Entrophospora</i> sp. A. Espora rota donde se aprecian las diferentes paredes; B. Espora unida al sáculo esporal y en posición distal a este se aprecia la segunda cicatriz; C. Detalle de la composición de la pared esporal. Tomado y modificado de (PEÑA <i>et al.</i> 2006, citado por Vega, M.V.M. 2011).....	14
Figura 06 A) Mapa del departamento de san Martín, ubicación de las tres provincias y zonas de colecta. B) Fincas con plantas de café, B) Marcado y Codificado de la planta seleccionada.....	20
Figura 07 Procedimiento de colecta de biomasa radicular y suelo rizosférico en fincas de café (<i>Coffea arabica</i> L.).....	22
Figura 08 Laboratorio de Micorrizas Arbusculares (LMA), Instituto de Investigaciones de la Amazonia Peruana- San Martín (IIA-SM).....	23
Figura 09 Selección y conservación de muestras biológicas (raíces de café).....	24
Figura 10 Procedimiento de aislamiento de esporas de HMA en fincas de café (<i>Coffea arabica</i> L.).....	25

Figura 11	Procedimiento para la tinción de raíces de café (<i>Coffea arabica</i> L.).....	27
Figura 12	Niveles de colonización (0-5) según el grado de colonización del hongo, método de Trouvelot, <i>et al.</i> , 1986.....	28
Figura 13	Morfotipos de esporas de hongos micorrizas arbusculares: Morfotipo 01, Morfotipo 02, Morfotipo 03, Morfotipo 04, Morfotipo 05, Morfotipo 06, Morfotipo 07, Morfotipo 08, Morfotipo 09.....	34
Figura 14	Morfotipos de esporas de hongos micorrizas arbusculares: Morfotipo 10, Morfotipo 11, Morfotipo 12, Morfotipo 13, Morfotipo 14, Morfotipo 15, Morfotipo 16, Morfotipo 17, Morfotipo 18.....	35
Figura 15	Morfotipos de esporas de hongos micorrizas arbusculares: Morfotipo 19, Morfotipo 20, Morfotipo 21, Morfotipo 22, Morfotipo 23, Morfotipo 24, Morfotipo 25, Morfotipo 26, Morfotipo 27.....	36
Figura 16	Morfotipos de esporas de hongos micorrizas arbusculares: Morfotipo 28, Morfotipo 29, Morfotipo 30, Morfotipo 31, Morfotipo 32, Morfotipo 33, Morfotipo 34.....	37
Figura 17	Simbiosis entre HMA y raíces de café; estructura externa de una raíz secundaria (A), Células corticales no colonizadas (B), Hifas de HMA (C), Arbúsculos de HMA (D), Vesículas de HMA (E).....	40

ÍNDICE DE CUADROS

Página

Cuadro 01	Información Hidrológica y Meteorológica de los meses donde se realizó la colecta del material biológico (suelo y raíces) de las tres provincias de la región San Martín del año 2014.....	20
Cuadro 02	Muestra las provincias, localidades, altitudes y variedades de café de donde se colectaron las muestras de suelo y raíces.....	21
Cuadro 03	Análisis físico - químico de suelos de los 27 tratamientos evaluados en las tres provincias (Lamas, Moyobamba, el Dorado) de la región San Martín. Fue realizado en el laboratorio de suelos y tejidos de la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM).....	26
Cuadro 04	27 tratamientos de las muestras colectadas en campo de las tres provincias tres altitudes y tres variedades. T=Tratamiento, La=Lamas, Chi=Chirapa, Av= Aviación, Cho=Chontalillo. Mo=Moyobamba, Ca=Calzada, An= los Ángeles, Po= Potrerillo. Do=Dorado, NJ= Nueva Juventud, Bv=Buena Vista, Mo= Monte los olivos. P=Pache, C=Caturra, N=Nacional.....	30
Cuadro 05	Escala de clasificación del porcentaje de colonización según Zangaro, <i>et al.</i> , 2002.....	32
Cuadro 06	Muestra la densidad de esporas y riqueza morfológica evaluados de las 27 muestras de suelo.....	38
Cuadro 07	Muestra la abundancia relativa (AR) y frecuencia de aislamiento (FA) de las 34 morfotipos encontradas en las 27 muestras de suelo evaluadas.....	39
Cuadro 08	Porcentaje de colonización micorrízica en las provincias de Lamas, Moyobamba y el Dorado.....	41
Cuadro 09	Análisis de varianza para el porcentaje colonización micorrízica en el cultivo de café (<i>Coffea arabica</i> L.). Datos transformados (\sqrt{x}).....	42
Cuadro 10	Prueba de Duncan ($P<0.05$) para promedios de los niveles del Factor A: Provincias en el porcentaje de colonización micorrízica.....	42
Cuadro 11	Prueba de Duncan ($P<0.05$) para promedios de los niveles del Factor B: Altitudes en el porcentaje de colonización micorrízica.....	42

Cuadro 12	Prueba de Duncan ($P < 0.05$) para promedios de los niveles del Factor C: Variedades en el porcentaje de colonización micorrízica.....	43
Cuadro 13	Análisis de correlación lineal entre el porcentaje de colonización micorrízica y parámetros ecológicos y del suelo...	45

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Página

Gráfico 01	Interacción de los niveles del factor A: Provincias dentro de los niveles del factor B: Altitudes en el porcentaje de colonización micorrízica. Datos transformados (\sqrt{x}).....	43
Gráfico 02	Interacción de los niveles del factor B: Altitudes dentro de los niveles factor A: Provincias en el porcentaje de colonización micorrízica. Datos transformados (\sqrt{x}).....	43
Gráfico 03	Interacción de los niveles del factor A: Provincias dentro de los niveles del factor C: Variedades en el porcentaje de colonización micorrízica. Datos transformados (\sqrt{x}).....	44
Gráfico 04	Interacción de los niveles del factor A: Provincias dentro de los niveles del factor B: Altitudes y del factor C: Variedades, en relación al porcentaje de colonización micorrízica.....	44

I. INTRODUCCIÓN

El café (*Coffea arabica* L.) es uno de los cultivos más importantes a nivel mundial, siendo cultivado en más de 70 países. Este cultivo ocupa el segundo lugar en comercialización, representando uno de los productos más negociados en el mundo moderno (Andrade, *et al.*, 2009). El café genera una importante fuente de ingresos para muchos países en desarrollo (África, Asia y América Latina), generando directa o indirectamente millones de puestos de trabajo (Davis, *et al.*, 2006).

En América Latina, el Perú, es uno de los países en vías de desarrollo dedicados a la actividad caficultora, siendo su principal producto agrícola de exportación, involucrando a más de 2 millones de peruanos. En el Perú, las principales regiones productoras son Junín (75,750 TM), Cajamarca (51,510 TM) y San Martín (66,660 TM); por lo tanto, este cultivo juega un papel primordial en la estructura económica, social, estándar de vida y desarrollo de estas regiones y del país (JNC, 2013). La caficultura peruana, a pesar de su importancia económica, enfrenta limitaciones en cuanto al manejo del cultivo (prácticas culturales deficientes, agotamiento de suelos, difusión de plagas y enfermedades, y sobre todo desconocimiento de la actividad biológica) que conllevan a índices de productividad por debajo de nuestros países vecinos, no permitiendo un mejor posicionamiento en el mercado internacional (MINAGRI, 2014). En este sentido, es necesario dar importancia al manejo del cultivo y en especial a la actividad biológica del suelo y la función de estos microorganismos en la nutrición de las plantas (Montilla, 2010). Uno de los microorganismos más estudiados son los Hongos Micorrízicos Arbusculares (HMA); estos microorganismos desarrollan relaciones simbióticas con aproximadamente el 90% de especies de plantas que colonizan la tierra (Smith y Read, 2008). Estos

HMA le proporcionan a las plantas nutrientes minerales, principalmente fósforo y agua, mediante un sistema ramificado de hifas extra-radicales capaz de explorar el suelo más allá de la zona de influencia de las raíces. Además, el desarrollo de la simbiosis induce cambios en la fisiología de la planta que la hace más resistente a diferentes tipos de estreses ambientales (Barea, *et al.*, 1980; Smith y Read, 2008). Numerosos estudios mostraron la presencia natural de estos microorganismos en fincas cafetaleras, así como la presencia de estructuras micorrízicas en sus raíces (López, *et al.*, 1983; Balota y López 1996; Pavan, *et al.*, 1999; Colozzi-Filho y Cardoso 2000; Theodoro, *et al.*, 2003; Muleta, *et al.*, 2007). Sin embargo, en el Perú no existen trabajos de investigación abordando la dinámica natural de estos microorganismos en el cultivo de café. Celerino, *et al.*, 2013, menciona que los Hongos Micorrízicos es de suma importancia debido a que desempeñan un papel clave en los ecosistemas terrestres regulando los ciclos de nutrientes y del carbono, y tienen influencia directa en la estructura del suelo y la multifuncionalidad de los ecosistema. Por lo anterior, el objetivo del presente trabajo de investigación consistió en evaluar la diversidad de Hongos Micorrízicos Arbusculares nativos y su potencial micorrízico en el cultivo de café (*Coffea arabica* L.) en diferentes condiciones agroecológicas de la región San Martín. Este trabajo se realizó en el marco del proyecto “Biorestauración de suelos con hongos micorrizas nativos en fincas con cafés arábigos (*Coffea arabica*. L) En la amazonia peruana”. Con el Fondo Nacional de Ciencia y Tecnología – FONDECYT.

II. OBJETIVOS

2.1. General:

- Determinar la diversidad de Hongos Micorrízicos Arbusculares nativos y su potencial micorrízico en el cultivo de café (*Coffea arabica* L.) en diferentes condiciones agroecológicas de la región San Martín.

2.2. Específicos:

- Evaluar la riqueza de morfotipos de Hongos Micorrízicos Arbusculares en el cultivo de café (*Coffea arabica* L.) en diferentes condiciones agroecológicas de la región San Martín.
- Cuantificar la densidad de esporas de Hongos Micorrízicos Arbusculares en el cultivo de café (*Coffea arabica* L.) en diferentes condiciones agroecológicas de la región San Martín.
- Determinar el porcentaje de colonización micorrízica en el cultivo de café (*Coffea arabica* L.) en diferentes condiciones agroecológicas de la región San Martín.

III. REVISIÓN DE LITERATURA

3.1. Aspectos generales del cultivo de café:

3.1.1. Origen y distribución

El café es originario de Etiopía (antiguamente Abisinia) y del Sudán y se extendió a otras partes del mundo pasando por Arabia. En la actualidad dos tercios de todo el café se cultivan en América Latina donde llegó vía Europa en el siglo XVIII. De las numerosas especies de cafeto, sólo tres son de importancia comercial pero dos solamente se utilizan ampliamente, *Coffea arabica* es la que más se cultiva y tiene la mayor demanda, crece en tierras altas, entre mil y dos mil metros. *C. robusta* es una variedad más resistente que se cultiva a menor altura y lluvia; es importante en la preparación de mezclas y es utilizada para elaborar café instantáneo. *C. liberica* es también resistente y de tierras bajas, (Agrobanco, 2007).

3.1.2. Descripción morfológica

El cafeto es una planta arbustiva o un árbol de poca altura, 4.5 a 6 metros, aunque en condiciones silvestres puede alcanzar mayor altura. La corteza del tronco es de color gris claro y las hojas de unos doce centímetros de largo son de un verde oscuro brillante. Las flores son pequeñas, blancas y olorosas; la floración que sólo dura unos cuantos días atrae a los insectos polinizadores. Los frutos se desarrollan durante los 6 a 7 meses siguientes a la floración; son bayas llamadas cerezas que maduran de un color carmesí brillante, dentro se encuentran, cubiertos por una pulpa dulce, dos semillas o granos y más raramente sólo uno.

3.1.3. Variedades de Café Árábico:

- **Typica (*Arábigo o Criollo*)**, es conocida en nuestro país como “arábigo” o “Criollo”. Fue el tipo café que se introdujo en América a principios del siglo XVII. Esta variedad, si se deja libre en su crecimiento, puede alcanzar más de cuatro metros de altura. Sus entrenudos son muy largos. Las hojas nuevas son de color bronceado. Las hojas maduras son angostas, comparadas son las de otras variedades. El fruto es alargado, de buen tamaño y de magnifico rendimiento cereza oro. Como posee un sistema radical poco profuso, tiende a sufrir deficiencias nutricionales, por ejemplo de Boro, Calcio, Magnesio, etc, (Alvarado y Rojas, 2007).
- **Caturra**, es un cultivar originario en Minas Gerais, Brasil, introducido en Costa Rica en los años cincuenta de este ciclo. Se le considera una mutación de la variedad Bourbon y se caracteriza por su tamaño reducido, de entrenudos cortos tanto en el tallo como en las ramas. Su porte pequeño favorece altos rendimientos por unidad de superficie bajo un manejo intensivo, (Alvarado y Rojas, 2007).
- **Pache**, es una mutación de *typica* tiene porte bajo, buena ramificación secundaria, entrenudos cortos y abundante follaje y termina en una copa bastante plana o “Pache”. Las plantaciones de pache se establecieron, principalmente, en oriente, donde su adaptabilidad y producción son satisfactorias. En general, se adapta bien en altitudes de 1067 a 1677 metros, (ANACAFE, 2004).

3.1.4. Taxonomía

El cultivo de café según, el Ministerio de Agricultura y Ganadería Dirección Regional Huetar Norte (2002), clasifica de la siguiente manera:

Reino	: Plantae
Grupo	: Fanerógama
Clase	: Angiospermas
Sub- clase	: Dicotiledóneas
Orden	: Rubiales
Familia	: Rubiácea
Género	: Coffea
Especie (s)	: Arabica, canephora, Liberica, etc.

3.2. Aspectos generales sobre las micorrizas

3.2.1. Micorrizas Arbusculares

Las micorrizas arbusculares son tan antiguas como las propias plantas y se conoce su existencia desde hace más de cien años; estimándose que aproximadamente el 95% de las especies vegetales conocidas establecen de forma natural y constante este tipo de simbiosis con hongos del suelo (Pérez, 2010).

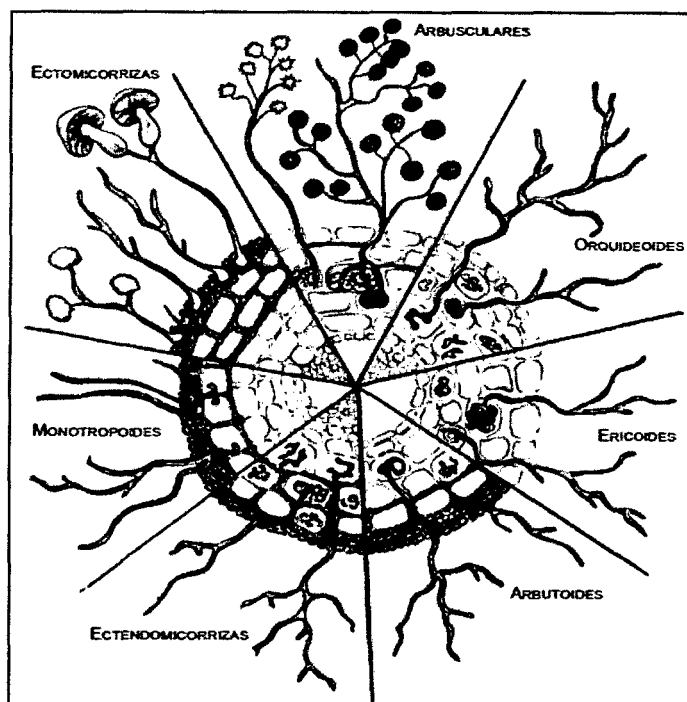


Figura 1: Esquema de tipos de micorrizas

Etimológicamente, la palabra se ha formado del término griego “mykos” (hongo) y del vocablo latino “Rhiza” (raíz). Esta asociación de ambos simbioses trae beneficios de vivir en una estrecha relación de mutua dependencia. Los beneficios más conocidos es el intercambio nutricional, en el que la planta da al hongo carbohidratos y otras sustancias sintetizadas por la misma, y el hongo da a la planta, agua, nutrientes minerales y orgánicos del suelo y otros sintetizados por el hongo, (Hernández 2001, citado por Montilla, 2010).

3.2.2. Clasificación de las micorrizas

El término micorriza engloba a muchos y muy diversos tipos de asociaciones entre hongos del suelo y plantas. En un principio se clasificaron a las micorrizas en ectomicorrizas y endomicorrizas (Smith y Read, 1997), en la

actualidad, y atendiendo a la diversidad estructural de micorrizas, estas se clasifican en siete tipos morfológicos distintos (Figura2), (Smith y Read, 2008).

a) Ectomicorrizas

Se caracterizan porque desarrollan una espesa capa de micelio sobre la zona cortical de las raíces absorbentes de la planta las hifas del hongo no penetran en el interior de las células de la raíz, si no que se ubican sobre y entre las separaciones de éstas. Se pueden observar a simple vista. Este tipo de micorrización predomina entre los árboles de zonas templadas, se producen principalmente sobre especies forestales y leñosos, siendo especialmente característico en hayas, robles, eucaliptus y pinos. Los hongos que la forman son tanto *Basidiomycota* como *Ascomycota*. Las ectomicorrizas son relativamente poco frecuentes en la naturaleza, sólo un 3 a 5% de las plantas terrestres establecen este tipo de simbiosis (Vega, 2011).

b) Endomicorrizas

Se caracterizan por la penetración del hongo inter e intracelularmente, la ausencia de manto y las acentuadas modificaciones anatómicas en las raíces no visibles a simple vista. Dentro de las endomicorrizas se distinguen varios subtipos: arbusculares, ericoides, orchidaceas, ectendomicorriza, arbutoides, y los monotropoides. El sub grupo importante desde el punto de vista de producción agrícola y forestal son los arbusculares y vesículo-arbusculares comúnmente simbolizados como MA o MVA (Vega, 2011).

- **Micorrizas arbusculares**, Es la asociación de mayor distribución entre las plantas, encontrándose en angiospermas, gimnospermas, helechos y briofitos. La forman hongos de la división Glomeromycota (Schüler *et al.*, 2001). Tradicionalmente esta simbiosis se conocía como micorrizas vesículo-arbusculares por la capacidad de ciertos hongos de formar tanto arbuscúlos como vesículas en el interior de la raíz (Taylor *et al.*, 1995).

c) Ectendomicorrizas

También llamados ectendomicorrizas, generalmente presentan las características de ectomicorrizas, con la diferencia que hay penetración intracelular. Algunos autores los clasifican como endomicorrizas, mientras que otros, basándose en la cercanía filogenética de los hongos asociados con los Ascomycota y Basidiomycota, las ubican como ectomicorrizas. Estas se encuentran en algunos subgrupos de Pinaceae y de Ericales, como los géneros *Arbutus* (Vega, 2011).

3.2.3. Simbiosis Micorrízica

La simbiosis micorrízica se refiere a la asociación mutualista que se establece entre plantas y específicos grupos de hongos que habitan en el suelo y en la rizósfera. De este modo se tienen identificados siete diferentes tipos de simbiosis micorrízicas, los cuales tienen repercusión en lo que respecta a la evolución, fisiología y adaptación ecológica de las plantas que habitan los ecosistemas terrestres. (Smith y Read, 1997; citados por Alarcón, y Ferrera-Cerrato, 2003).

La importancia de la asociación micorrízica se basa exclusivamente al papel del hongo en el mayor suplemento de nutrimentos desde el suelo a la planta, sirviendo como intermediario el micelio externo. La asociación micorrízica es una estructura en la cual una unión simbiótica entre un hongo y los órganos absorbentes (las raíces) de una planta, confiere incremento de la adaptabilidad de uno o los dos participantes (Duchicela y González, 2003).

3.2.4. Principales géneros de hongos micorrízicos:

La identificación de los hongos micorrízicos arbusculares (MA) está basada en la observación de sus características morfológicas de su micelio que se producen tanto en el suelo como en el hospedero, y la formación de esporocarpos o clamidosporas y esporas, (Vega, 2011) menciona los siguientes géneros.

Género Acaulospora

La Espora, es Globosa o subglobosa, de 100-400 μm de diámetro, de color blanco, café rojizo oscuro, al estereoscopio, y blanca o amarilla oliva al microscopio. La hifa adherida a la espora es de forma ahusada con el ápice inflado y globoso llamado vesícula.

Las Paredes de la espora, son formadas por dos grupos de paredes fácilmente distinguibles: La primera unidad, la más externa, está formada por una pared hialina remanente del sáculo la cual no ha sido observada.

La Cicatriz, es difícil de observar por la ornamentación de la espora. Pero cuando se observa aparece como una marca ovoide de 9-16 μm de diámetro, que aparece en una de las zonas donde no hay ornamentación.

La Reacción Melzer, es la pared más interna reacciona tornándose roja o rosada.



Figura 2: *Acaulospora* sp. A. Espora completa. B. Detalle de la composición de la pared, incluida la cicatriz. C. Espora completa unida al sáculo, (Vega, 2011).

Género Gigaspora

La Espora, es globosa, grande, de 200 a 240 μm de diámetro, opaca, de color amarillo pálido a amarillo. La forma de las esporas es globosa y sub globosas.

Paredes de la espora, se distinguen dos paredes que forman un único grupo: una externa, laminada, con corona de 5 micras de espesor, y una pared interna más clara, rígida de 2 μm de espesor.

La Reacción Melzer, presenta pared externa que se torna rojo intenso a vino tinto.



Figura 3: *Gigaspora* sp. **A.** Espora completa con célula suspensoria; **B.** Detalle de la célula bulbo; **C.** Reacción de Melzer positiva observada en forma parcial en la pared externa de la espora, (Vega, 2011).

Género *Glomus*

Las Esporas, generalmente son globosas, algunas irregulares, pequeñas, de 40-70 μm en diámetro, de color hialino, amarillo, negro, de marrón amarillento a rojizo o anaranjado al estereoscopio. Se organizan en esporocarpos laxos de uno más de 20 esporas. Aun cuando se reporta que forman grupos de más de 100 esporas, Las esporas se unen frágilmente entre sí, a través de conexiones hifales múltiples.

Las Paredes de la espora, forman un solo grupo grueso de paredes, la pared más externa es laminada de 4 μm de espesor que le da el color a la espora. Generalmente con restos de hifas en la superficie o conexiones hifales. La forma es globosa, elipsoides o reniforme; de superficie lisa o áspera deslucido, escamoso o sin escama, verrugoso con espinas delgadas.

La Conexión hifal, de las esporas pueden presentar más de una conexión hifal, esta puede ser sencilla o doble. La conexión hifal es gruesa, de 5-6 μm de ancho, estrecha hacia la base de la espora, puede o no formar sepa, la que es formada por engrosamiento de la pared interna.

La Reacción Melzer, ninguna en la mayoría de especies. Sin embargo, en algunos puede reaccionar formando un color púrpura claro.

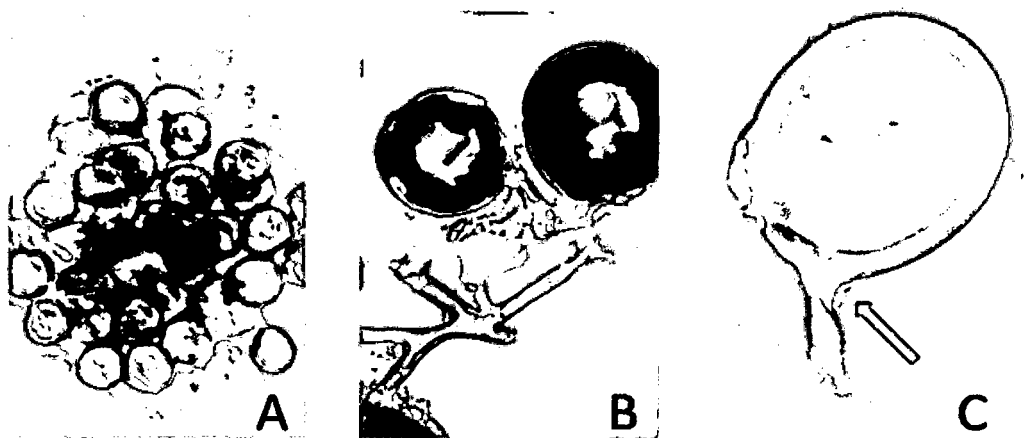


Figura 4: *Glomus* sp. **A.** Grupo laxo de esporas con una capa mucilago externo. **B.** Esporas con hifas sin septas. **C.** Detalle de la conexión hifal y la composición de la pared esporal, (Vega, 2011).

Género *Entrophospora*

La Espora, es de forma globosa, opaca, de superficie lisa, entre 90-120 μm de diámetro, de color oliva pálida al estereoscopio, y amarillo-oliva al microscopio.

Las Paredes de la espora, posee tres grupos de paredes: la más externa es membranosa, transparente, de menos de 1 μm de espesor. La segunda pared

es laminada, de 2 a 4 μm de espesor, de color amarillo. La pared más interna es transparente, delgada y se aprecia cuando se desprende de la laminada al escachar la espora.

En la **Reacción Melzer**, la pared más interna reacciona tornándose de color púrpura intenso.

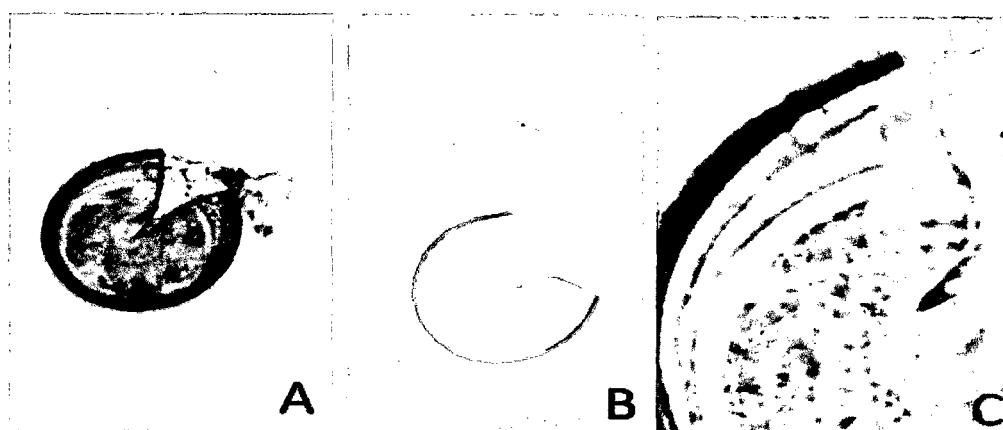


Figura 5: *Entrophospora* sp. **A.** Espora rota donde se aprecian las diferentes paredes; **B.** Espora unida al sáculo esporal y en posición distal a este se aprecia la segunda cicatriz; **C.** Detalle de la composición de la pared esporal, (Vega, 2011).

3.2.5. Importancia de las micorrizas en la agricultura

La micorriza cumple una función clave en la agricultura sostenible. En el prefacio del libro *Mycorrhizae in sustainable agriculture*, (Bethlenfalvay y Liderman, 1992, citado por Blanco y Salas, 1996), concluye que “si el objetivo, es reducir los insumos químicos por razones ambientales y de salud, entonces se necesita restablecer los hongos micorrizicos y otros microbios benéficos a un alto nivel de efectividad para compensar la reducción de insumos”. Esta estrategia coincide con el punto de vista de que el grado de

empobrecimiento o desaparición de la microflora (Micorrizas Arbusculares) es un indicador del descenso en estabilidad del sistema planta-suelo.

Los efectos beneficios de la introducción artificial de inóculo micorrízico resultan más evidentes en suelos donde las poblaciones de hongos MA nativos no existen, o han sido eliminadas por empleo de prácticas agrícolas desfavorables para su desarrollo como la fumigación del suelo y el cultivo intensivo. Los beneficios económicos se derivan de una mayor y más uniforme producción, una mayor rapidez de crecimiento y entrada en producción de las plantas, una mejor calidad de la cosecha y un ahorro en fertilizantes, riego y productos fitosanitarios (Paillacho, 2010).

3.2.6. Beneficios de las micorrizas

Beneficios de las micorrizas para las plantas:

Los principales beneficios que realizan las Micorrizas están relacionados con la nutrición de las plantas, tiene notable importancia porque permite la vida de las plantas en determinadas condiciones y facilita la toma de los alimentos por parte de las plantas superiores. Dentro de estos y otros beneficios tenemos los siguientes:

- Una mejor asimilación de los nutrientes en las plantas, que facilita un aumento de la producción y mayor calidad biológica de ésta.
- Una mayor tolerancia de las plantas frente a muchos factores de estrés: sequía, desequilibrios en el pH, altos contenidos de sales.

- Promueve en éstas una mayor resistencia frente a organismos patógenos, mejorando su salud sin aplicación de agro tóxicos, generando así un ahorro de insumos y una mejor protección del medio ambiente.
- En suelos afectados por los efectos negativos de los metales pesados, las plantas micorrizadas poseen mayor resistencia, gracias a la capacidad que obtiene para inmovilizar los metales en la raíz, impidiendo que éstos pasen a la parte aérea de la planta, (Montilla, 2010).

Beneficios de las micorrizas para el suelo:

Los efectos benéficos de las Micorrizas en el suelo están muy relacionados con sus efectos sobre las plantas por estar éstos (suelo-planta), estrechamente relacionados. Sin embargo, podemos declarar que las Micorrizas, realizan varias funciones en el suelo que incrementan mucho su potencial agro productivo y sus posibilidades de sostén y mantenimiento de las diferentes especies vegetales. A modo de resumen declaramos los siguientes efectos:

- Las Micorrizas prolongan el sistema radical de las plantas, y ello facilita una mayor retención física de partículas del suelo, limitando los efectos dañinos de la erosión causada por el agua.
- Las Micorrizas regeneran los suelos degradados, mejorando la estructura de éste incrementa sus posibilidades de retención de humedad, aireación y descomposición de la materia orgánica.

- Interaccionan con diversos microorganismos del suelo, estableciendo provechosas cooperaciones con unos y compitiendo con otros generalmente de tipo patógeno, e incluso interactuando con la micro fauna de la rizósfera (Nematodos, Afidios, Ácaros, entre otros) (Montilla, 2010).

3.2.7. Factores ecológicos relacionados con las micorrizas

La infección micorrízica depende de condiciones que determinan las características de los hospederos y del suelo, en particular el potencial fotosintético del hospedero y la fertilidad, condiciones físicas, contenido de agua y cantidad y calidad del humus presente en el suelo (Hermard *et al.*, 2002). Entre los factores condicionantes se pueden mencionar:

Luz. Al incrementarse la intensidad luminosa el aumento de micorrizas es proporcional al número de raíces cortas posiblemente por un aumento en la disponibilidad de nutrientes, principalmente carbohidratos libres en las raíces.

Temperatura. La temperatura tiene una acción directa sobre el porcentaje de crecimiento radical y sobre la producción de nuevas raíces. Las temperaturas óptimas para el crecimiento de las micorrizas varía entre 17 y 27 °C para la mayoría de estos hongos, como por ejemplo *Lactarius*, *Amanitas*, y algunos *Boletus*, que tienen un óptimo térmico superior a los 20 °C.

Agua y Aireación. Las formaciones micorrizicas están influenciadas por la humedad del suelo y por la aireación. Se presume que el crecimiento micelar decrece a una baja concentración de oxígeno debido a que la mayoría de

estos hongos micorrízicos son aeróbicos. En efecto, la formación micorrízica se inhibe en suelos arcillosos debido a la dificultad de las raíces para penetrar en este, así como también por una pobre aireación.

Suelos y Fertilidad. La cantidad y la calidad de humus, constituye el factor más importante en la formación de las micorrizas, por lo tanto estas disminuyen con la profundidad. La pobreza relativa en sales minerales disponibles por otra parte determina la prevalencia de micorrizas en bosques. Cuando los nutrientes son abundantes en el suelo y el crecimiento de árboles es vigoroso la mayoría de los nuevos carbohidratos pueden ser utilizados para formar nuevos tejidos, siendo pobre su acumulación en las raíces.

Al existir deficiencias de N, P y K disponibles, se impide la formación micorrízica y el crecimiento radicular, pero al existir una deficiencia moderada de uno de estos nutrientes la infección se lleva a cabo, (Hermard *et al.*, 2002).

IV. MATERIALES Y MÉTODO

4.1. Materiales, equipos, insumos y reactivos

Materiales	Equipos	Insumos y Reactivos
➤ Placas Petri	➤ Centrifuga	➤ Hidróxido de potasio
➤ Probetas 1 lt	➤ Microscopio binocular	➤ Agua oxigenada
➤ Vaso precipitado	➤ Estereoscopio 3X	➤ Azúcar blanca
➤ Porta y cubre objeto	➤ Estuche de disección	➤ Ácido acético
➤ Tubos falcon 50ml.	➤ Tamices	➤ Azul de trypano
➤ Tubos de ensayo	➤ Micropipetas	➤ Glicerol
➤ Etiquetas	➤ Balanza	➤ Ácido láctico

4.2. Metodología

4.2.1. Área de estudio

El área de estudio abarcó las provincias de Lamas, Moyobamba y El Dorado; todas ellas dentro de la región San Martín (Figura 6). En cada provincia se seleccionaron áreas productoras de café ubicadas en tres pisos altitudinales diferentes (800-1000, 1000-1200 y 1200-1400 m.s.n.m.m). Y dentro de cada piso altitudinal se seleccionaron fincas cafetaleras que presenten tres variedades de café (Caturra, Pache y Nacional), ver cuadro 2.

Cuadro 1: Información Hidrológica y Meteorológica de los meses donde se realizó la colecta del material biológico (suelo y raíces) de las tres provincias de la región San Martín del año 2014.

ESTACIÓN: CO "MOYOBAMBA"					ESTACIÓN: CO "DORADO"					ESTACIÓN: CO "LAMAS"				
Latitud: 06°00'		Departamento: SAN MARTÍN			Latitud: 06°32'		Departamento: SAN MARTÍN			Latitud: 06°16'		Departamento: SAN MARTÍN		
Longitud: 76°58'		Provincia: MOYOBAMBA			Longitud: 76°44'		Provincia: EL DORADO			Longitud: 76°42'		Provincia: LAMAS		
Altura: 860 m.s.n.m		Distrito: MOYOBAMBA			Altura: 420 m.s.n.m		Distrito: SAN MARTÍN DE ALAO			Altura: 920 m.s.n.m		Distrito: LAMAS		
PRECIPITACIÓN TOTAL MENSUAL EN (mm)					PRECIPITACIÓN TOTAL MENSUAL EN (mm)					PRECIPITACIÓN TOTAL MENSUAL EN (mm)				
AÑO	MAY	JUN	JUL	TOTAL	AÑO	MAY	JUN	JUL	TOTAL	AÑO	MAY	JUN	JUL	TOTAL
2014	59.5	73.4	52.1	185	2014	165.3	94.4	69	328.7	2014	80.8	61.9	83.2	226
TEMPERATURA MEDIA MESUAL EN C°					TEMPERATURA MEDIA MESUAL EN C°					TEMPERATURA MEDIA MESUAL EN C°				
AÑO	MAY	JUN	JUL	TOTAL	AÑO	MAY	JUN	JUL	TOTAL	AÑO	MAY	JUN	JUL	TOTAL
2014	23.1	22.9	22.4	22.8	2014	25.9	25.2	25	25.4	2014	23.8	23.4	23.2	23.5
HUMEDAD RELATIVA EN %					HUMEDAD RELATIVA EN %					HUMEDAD RELATIVA EN %				
AÑO	MAY	JUN	JUL	TOTAL	AÑO	MAY	JUN	JUL	TOTAL	AÑO	MAY	JUN	JUL	TOTAL
2014	84	82	82	82.7	2014	83	83	82	82.7	2014	85	86	86	85.7

Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología del Perú (SENAMHI- SAN MARTIN).

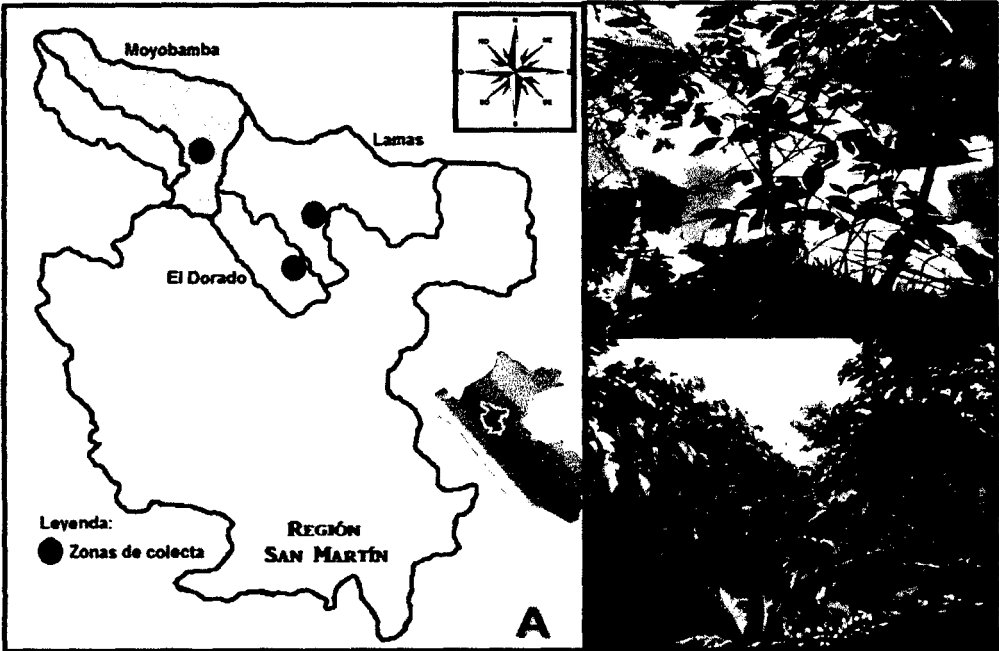


Figura 6: A) Mapa del departamento de San Martín, ubicación de las tres provincias y zonas de colecta, B) Marcado y codificado de plantas evaluadas C) Fincas cafetaleras.

Cuadro 2: Provincias, localidades, altitudes y variedades de café donde fueron colectadas las muestras de suelo y raíces.

PROVINCIA	LOCALIDAD	ALTITUD	VARIEDAD
Lamas	Chirapa	800-1000	Pache
			Caturra
			Nacional
	Aviación	1000-1200	Pache
			Caturra
			Nacional
	Chontalillo	1200-1400	Pache
			Caturra
			Nacional
Moyobamba	Calzada	800-1000	Pache
			Caturra
			Nacional
	Los Angeles	1000-1200	Pache
			Caturra
			Nacional
	Potrerillo	1200-1400	Pache
			Caturra
			Nacional
Dorado	Nueva Juventud	800-1000	Pache
			Caturra
			Nacional
	Buena Vista	1000-1200	Pache
			Caturra
			Nacional
	Monte de los Olivos	1200-1400	Pache
			Caturra
			Nacional

4.2.2. Colecta y codificación de muestras biológicas

Fueron colectadas muestras biológicas (biomasa radicular y suelo rizosférico) de un total de 81 plantas de café (03 plantas / variedad / altitud / provincia), seleccionadas aleatoriamente entre los meses de mayo a julio del 2014. De cada planta, se colectaron aproximadamente 200 g. de biomasa radicular y 300 g. de suelos rizosférico en tres puntos equidistantes, entre 20-30 cm. de distancia del tallo principal y entre 0-15 cm. de profundidad (Robles *et al.*, 2008). Las 03 sub-muestras de biomasa radicular y suelo rizosférico fueron

posteriormente mezclados para obtener una sola muestra compuesta por planta. La biomasa radicular y suelo rizosférico fueron colocadas en bolsas de polietileno debidamente codificadas en forma independiente para su transporte al laboratorio (Figura 7).

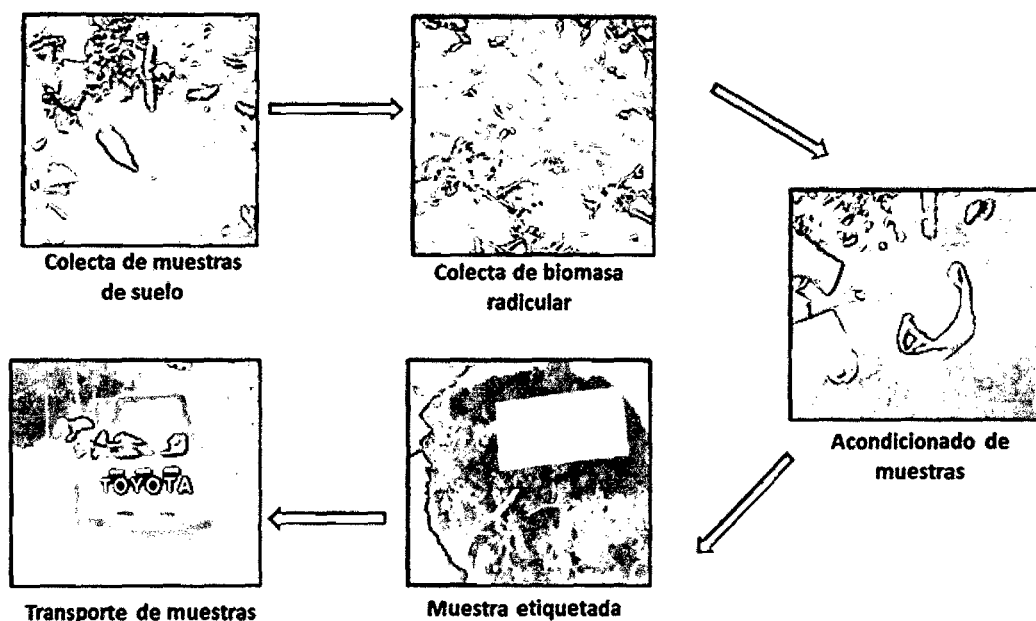


Figura 7: Procedimiento de colecta de biomasa radicular y suelo rizosférico en fincas de café (*Coffea arabica* L.).

4.2.3. Área de trabajo

Las evaluaciones de diversidad de HMA y colonización micorrízica fueron conducidos en las instalaciones del Laboratorio de Micorrizas Arbusculares (LMA) del Instituto de Investigaciones de la Amazonia Peruana, San Martín (IIAP-SM), en el Distrito de Morales, Provincia y Departamento de San Martín (Figura 8).

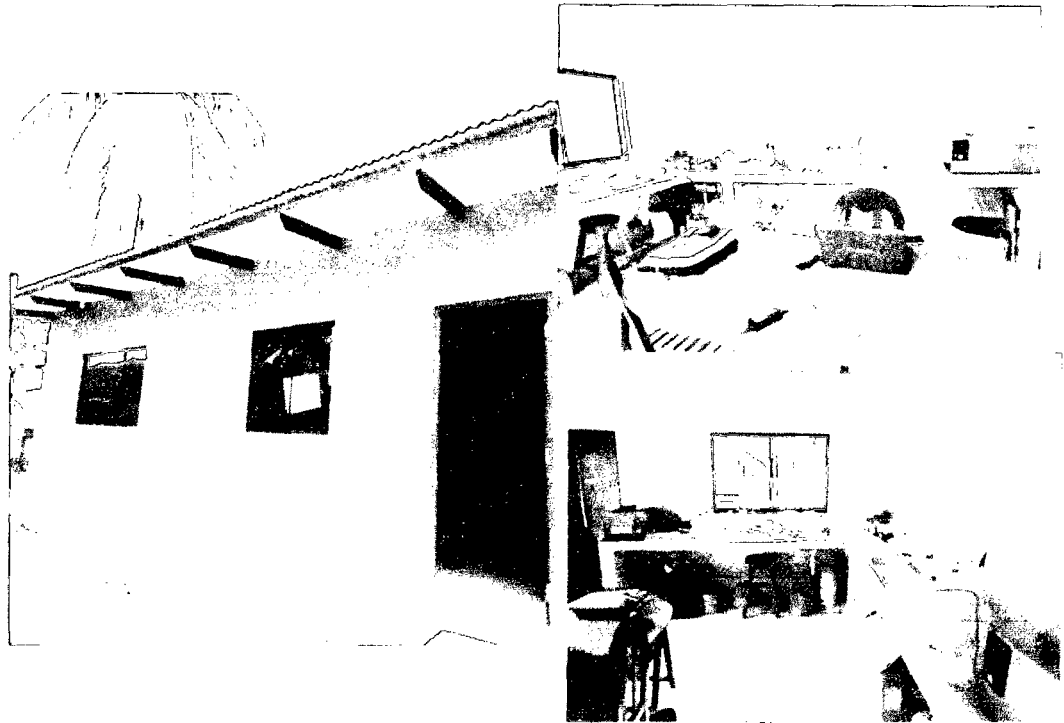


Figura 8: Laboratorio de Micorizas Arbusculares (LMA), Instituto de Investigaciones de la Amazonia Peruana- San Martín (IIAP-SM).

4.2.4. Selección y conservación de muestras biológicas

Una fracción de la muestra de suelo rizosférico de cada planta fue separada y colocada en bolsas con cierre hermético ziploc y almacenada entre 4 a 6 °C para su posterior análisis en el laboratorio de Micorizas y la otra fracción fue enviada para su análisis físico-químico a la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM).

Las raíces colectadas fueron lavadas con abundante agua para desprender partículas de suelo y otros residuos adheridos. Posteriormente se seleccionaron raíces secundarias y terciarias (más finas), las cuales fueron cortadas en segmentos entre 1-2 cm de longitud y colocadas en tubos de

ensayo de 50 ml. con una solución alcohol (50%) para ser almacenadas entre 4 a 6 °C para su posterior análisis en laboratorio (Figura 9).

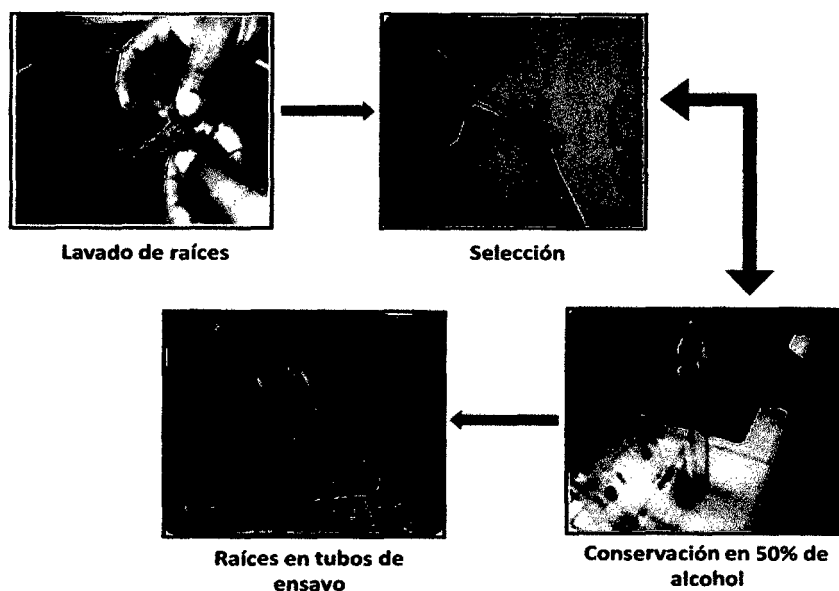


Figura 9: Selección y conservación de muestras biológicas (raíces de café).

4.2.5. Aislamiento de esporas

El aislamiento de esporas se realizó según el método de tamizado húmedo y decantación (Gerdemann y Nicolson, 1963), seguido por una centrifugación en sacarosa 45 % (Sieverding, 1983). Para esto se pesó 10 g. de suelo que fue homogenizado y colocado en una probeta conteniendo un litro de agua. Se agitó de 2-3 veces manualmente, luego se dejó en reposo por 20 segundos para precipitar partículas mayores. El sobrenadante se pasó por tamices con aberturas de 250 y 38 micras, el material colectado en el tamiz de 38 micras, fue trasferido a un tubo falcon de centrifuga con la ayuda de una pizeta. Posteriormente se enrazó con sacarosa (45%) hasta completar un volumen final de 50 ml. Estos tubos fueron centrifugados a 2000 rpm / 1 minuto 30 segundos para precipitar partículas de suelo y suspender las

esporas; el sobrenadante fue retirado cuidadosamente y colocado en un tamiz de 38 micras para proceder a lavar con agua corriente y eliminar la sacarosa, dejando solamente las esporas. La muestra (esporas) fueron colocadas en tubos falcon y enrazadas con agua hasta completar a 15 ml. (Figura 10).

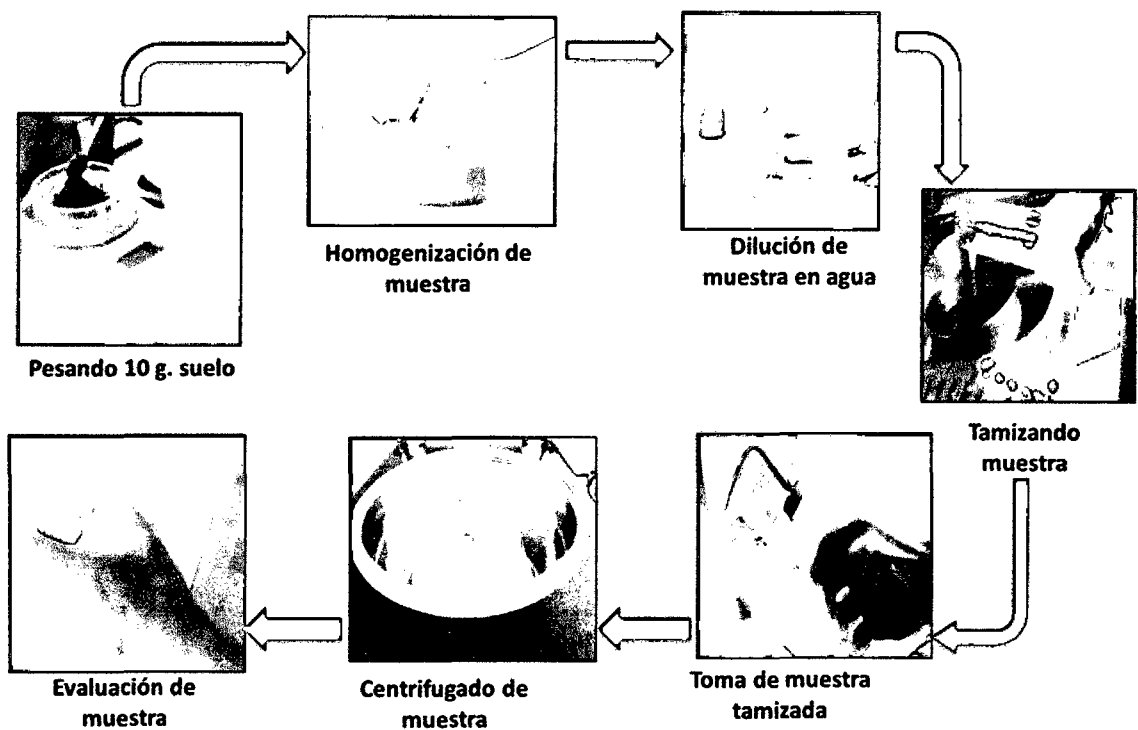


Figura 10: Procedimiento de aislamiento de esporas de HMA en suelo rizosférico proveniente de fincas de café (*Coffea arabica* L.).

4.2.6. Cuantificación de esporas e identificación de Morfotipos

De cada muestra procesada por la técnica anterior y teniendo en cuenta lo indicado por Schenck y Pérez, (1990), se tomaron 2 ml. de cada tubo falcon, se depositaron en una placa Petri rayada en cuadrículas (1cm²) para realizar y facilitar la cuantificación de esporas e identificación de los morfotipos. La cuantificación de esporas se realizó en un estereoscopio con un aumento de 3x. La identificación de morfotipos se realizó en un microscopio binocular con objetivos de 40x e inmersión 100x; se consideró parámetros morfológicos

como el color y forma. La evaluación de todas las características morfológicas se realizó de acuerdo a los parámetros usados en el catálogo ilustrado de Micorrizas Arbusculares de la amazonia colombiana. Peña, *et al.*, (2006). Por cada muestra se realizaron tres conteos, para obtener un estimativo del número total de esporas.

4.2.7. Análisis Físico y Químico del Suelo:

Se realizó los análisis físicos-químicos de suelo de los 27 tratamientos estudiados, para determinar la Clase Textural, Materia Orgánica (MO), Acidez (pH), Niveles de Fósforo y Potasio.

Cuadro 3: Análisis fisico-químico de suelos de los 27 tratamientos evaluados en las tres provincias (Lamas, Moyobamba, el Dorado) de la región San Martín.

N°	MUESTRA	pH	N%	MO	P	K%	ARENAX	Limo %	Arella %	Clase Textural
1	LA-CHI-P	4.51	0.14	3.50	4.1	40	73	19	8	Fr, A.
2	LA-CHI-C	3.97	0.18	4.17	3.9	50	75	19	6	Fr, A.
3	LA-CHI-N	4.50	0.16	4.84	4.3	55	79	17	4	A, Fr
4	LA-AV-P	3.32	0.31	4.09	3.1	139	73	19	8	Fr, A.
5	LA-AV-C	3.22	0.26	5.22	3.5	157	71	17	12	Fr, A.
6	LA-AV-N	3.08	0.36	4.26	3.9	162	75	17	8	Fr, A.
7	LA-CHO-P	4.00	0.33	5.15	3.8	162	65	23	12	Fr, A.
8	LA-CHO-C	3.97	0.32	5.36	3.7	146	73	19	8	Fr, A.
9	LA-CHO-N	3.62	0.25	5.26	3.0	181	61	25	14	Fr, A
10	MO-CA-P	3.58	0.26	3.71	3.1	154	57	29	14	Fr, A
11	MO-CA-C	3.32	0.32	4.09	3.3	124	61	31	8	Fr, A
12	MO-CA-N	3.63	0.25	4.47	2.9	139	61	29	10	Fr, A
13	MO-AN-P	4.13	0.51	5.63	3.7	303	39	31	30	Fr, Ar.
14	MO-AN-C	4.12	0.55	7.04	4.5	281	47	35	34	Fr, Ar
15	MO-AN-N	3.67	0.60	6.32	2.8	282	55	19	26	Fr, Ar, A
16	MO-PO-P	3.26	0.27	4.91	3.8	142	79	15	6	A, Fr
17	MO-PO-C	3.41	0.37	5.70	4.5	160	79	17	4	A, Fr
18	MO-PO-N	3.27	0.32	5.31	3.8	123	75	19	6	Fr, A.
19	DO-NJ-P	6.00	0.48	6.63	5.6	139	50	31	14	Fr, A
20	DO-NJ-C	7.01	0.49	6.46	5.2	171	33	41	26	Fr.
21	DO-NJ-N	7.01	0.47	6.80	6.0	203	45	37	18	Fr.
22	DO-BV-P	6.43	0.33	4.12	5.4	340	35	51	14	Fr, L
23	DO-BV-C	5.60	0.43	5.70	5.5	373	33	47	20	Fr.
24	DO-BV-N	5.05	0.38	5.53	5.2	306	37	43	20	Fr.
25	DO-MO-P	4.94	0.33	4.09	7.9	218	45	37	18	Fr.
26	DO-MO-C	4.48	0.42	5.49	6.3	254	55	37	8	Fr, A.
27	DO-MO-N	4.39	0.38	4.79	7.1	289	45	37	18	Fr.

Fuente: Laboratorio de suelos y tejidos de la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM), 2014.

4.2.8. Tinción de raíces

La tinción se realizó de acuerdo con la técnica de Phillips y Hayman (1970) con modificaciones. Para esto las raíces fueron colocadas en tubos de ensayo de 50 ml. conteniendo una solución de hidróxido de potasio (KOH) al 10% hasta cubrir la muestra. Después fueron colocadas en baño maría a 90°C durante 30 minutos con la finalidad de remover el contenido citoplasmático y clarificar el tejido cortical, luego se lavó tres veces con agua corriente hasta eliminar todo el KOH. Posteriormente las raíces fueron sumergidas en agua oxigenada durante 90 minutos a temperatura ambiente, para aclarar los pigmentos de la raíz, luego se lavaron con vinagre blanco de 2-3 veces para acidificar las muestras. Finalmente las raíces fueron sumergidas en tinte azul de trypano (0.25%), y colocadas en baño maría a 90°C durante 60 minutos y en seguida fueron lavadas entre 2-3 veces con vinagre (50%) para eliminar el exceso de tinta. Por último las raíces teñidas fueron conservadas en vinagre blanco, hasta su evaluación (Figura 11).

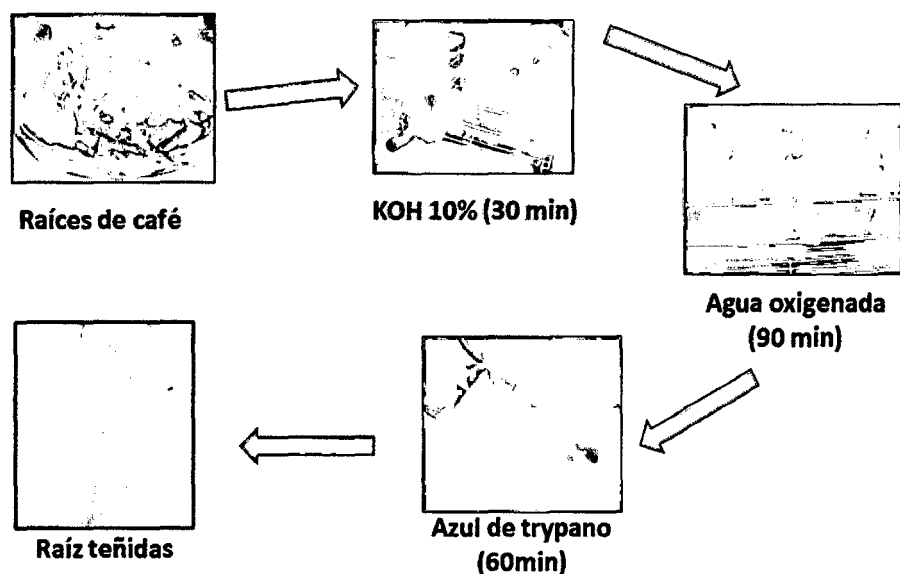


Figura 11: Procedimiento de tinción de raíces de café (*Coffea arabica* L.)

4.2.9. Estimación del grado de colonización micorrízica

La colonización micorrízica fue calculado utilizando la metodología propuesta por Trouvelot, *et al.*, 1986, también citado en Covacevich, *et al.*, 2001. Para cada planta examinada, cuarenta segmentos de raíces finas teñidas de aproximadamente un 1 cm de longitud fueron montados en paralelo sobre cuatro portaobjetos (10 segmentos de raíz/portaobjetos) y se observaron a un aumento de 100x. A cada segmento de raíz se asignó uno de seis categorías (0-5) de acuerdo a la colonización micorrízica que van desde 0% a > 95% de micorrización (Figura 12).

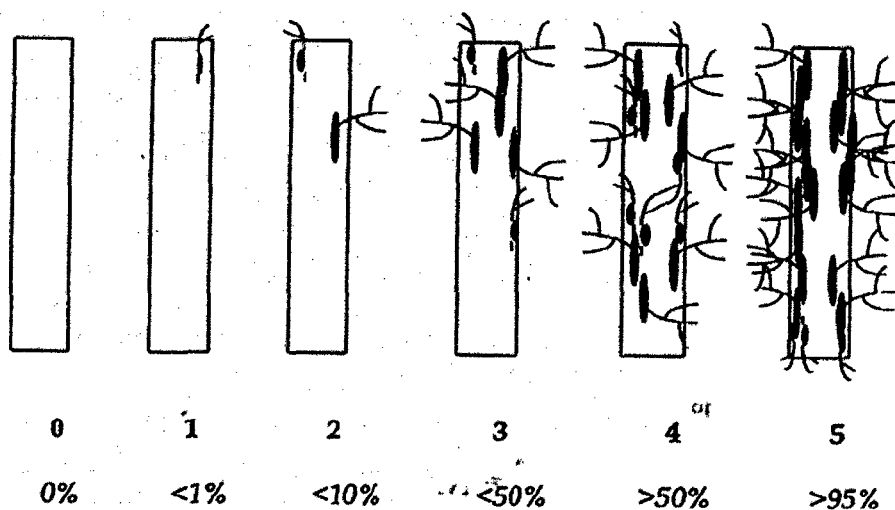


Figura 12: Niveles de colonización (0-5) según el grado de colonización del Hongo, método de Trouvelot, *et al.*, 1986.

4.2.10. Diseño experimental

El trabajo de investigación se desarrolló utilizando un diseño completamente al azar con arreglo factorial 3A x 3B x 3C.

Factor A: Provincias	Factor B: Altitud	Factor C: Variedad
-----------------------------	--------------------------	---------------------------

A1: Lamas	B1: 800-1000	C1: Pache
A2: Moyobamba	B2: 1001-1200	C2: Caturra
A3: Dorado	B3: 1201-1400	C3: Nacional

La interacción de cada uno de los factores dio origen a 27 tratamientos (cuadro 03), con tres repeticiones. La unidad experimental estuvo constituida por una planta de café y el diseño experimental tuvo un total de 81 planta con un nivel de significancia de $p < 0,05$ probabilidad de error para determinar la naturaleza de las diferencias entre tratamientos (PADRON, 1996); previamente los datos de porcentaje de colonización fueron transformados a raíz de (\sqrt{x}). Posteriormente, los datos fueron sometidos a la prueba de *Duncan* con un nivel de significancia de $p < 0,05$ de probabilidad. Los datos fueron analizados utilizando el análisis estadístico software SPSS v. 21.

Cuadro 4: Tratamientos en estudio de las muestras colectadas en campo de las tres provincias tres altitudes y tres variedades. **T**=Tratamiento, **La**=Lamas, **Chi**=Chirapa, **Av**=Aviación, **Cho**=Chontalillo. **Mo**=Moyobamba, **Ca**=Calzada, **An**= los Ángeles, **Po**= Potrerillo. **Do**=Dorado, **NJ**= Nueva Juventud, **Bv**=Buena Vista, **Mo**= Monte los olivos. **P**=Pache, **C**=Caturra, **N**=Nacional.

TRATAMIENTOS					
LAMAS		MOYOBAMBA		DORADO	
T1	La-Chi-P	T10	Mo-Ca-P	T19	Do-NJ-P
T2	La-Chi-C	T11	Mo-Ca-C	T20	Do-NJ-C
T3	La-Chi-N	T12	Mo-Ca-N	T21	Do-NJ-N
T4	La-Av-P	T13	Mo-An-P	T22	Do-Bv-P
T5	La-Av-C	T14	Mo-An-C	T23	Do-Bv-C
T6	La-Av-N	T15	Mo-An-N	T24	Do-Bv-N
T7	La-Cho-P	T16	Mo-Po-P	T25	Do-Mo-P
T8	La-Cho-C	T17	Mo-Po-C	T26	Do-Mo-C
T9	La-Cho-N	T18	Mo-Po-N	T27	Do-Mo-N

4.2.11. Análisis de datos:

A). Diversidad de Hongos Micorrízicos Arbusculares:

Para evaluar la diversidad de Hongos Micorrízicos Arbusculares fueron calculados los siguientes parámetros ecológicos:

➤ Densidad de esporas

La densidad de esporas, es la abundancia o el número de esporas que se encuentran en una determinada área o muestra evaluada

(Krebs, 1985, Robles C, *et al.*, 2013). En la presente investigación se determinó la densidad de esporas en 10 g. de suelo para las 27 muestras.

➤ **Riqueza de especies (S)**

La riqueza de especies es comúnmente expresado como el número total de especies o morfotipos presentes en una comunidad o muestra evaluada (Wiensczyk, *et al.*, 2002). En la presente investigación se determinó la riqueza de morfotipos en 10 g. de suelo en las 27 muestras.

S= Número de morfotipos en 10 g. de suelo

➤ **Abundancia relativa (AR)**

La abundancia relativa indica la capacidad de esporulación de cada especie o morfotipo; es determinado como la relación entre el número de individuos de un morfotipo en particular y el número total de individuos evaluados (Robles C, *et al.*, 2013). Todas las especies o morfotipos que presenten $AR > 5\%$ serán considerados como dominantes (Li, *et al.*, 2007). Este parámetro fue utilizado para determinar los morfotipos predominantes en cada sitio de muestreo; se calculó con la siguiente formula:

$$AR = n_i / N$$

n_i = número de esporas de una especie o morfotipo

N = número total de esporas en todas las muestras.

➤ **Frecuencia de aislamiento (FA)**

Refleja la distribución de una especie o morfotipo específico en un ecosistema (Dandon y zhiwei, 2007). Todos las especies o morfotipos que presenten FA>50% serán considerados como dominantes (Li, *et al.*, 2007). En la presente investigación la Frecuencia de Aislamiento (FA) fue utilizado para evaluar la distribución de cada morfotipo en su ecosistema, se calculó con la siguiente formula:

$$FA = \frac{(N^{\circ} \text{ de muestras de suelo donde la especie estuvo presente}) \times 100}{(N^{\circ} \text{ total de muestras de suelo})}$$

B). Evaluación de colonización micorrízica

Con la finalidad de determinar la colonización de hongos micorrízicos en raíces de café se realizó el siguiente análisis:

➤ **Porcentaje de micorrización**

El porcentaje de micorrización en el sistema radicular se calculó según la metodología propuesta por Trouvelot *et al.*, (1986):

$$\%M = (n1 + 5(n2) + 30(n3) + 70(n4) + 95(n5))/N$$

N= Número total de segmentos observados

n=Números de segmentos asignados con el índice 0, 1, 2, 3, 4 y 5

Cuadro 5: Escala de clasificación del porcentaje de colonización según Zangaro, *et al.*, 2002.

Muy bajo	1 - 19 %
Bajo	20 - 39 %
Intermedio	40 - 59 %
Alto	60 - 79 %
Muy alto	> 80 %

➤ **Correlación entre el porcentaje de micorrización (%M) y parámetros ecológicos y del suelo.**

Las relaciones entre el porcentaje de colonización micorrízica (Trouvelot, *et al.*, 1987) y parámetros ecológicos (densidad de esporas y riqueza de morfotipos) y del suelo (pH, P, N y % de arena) fueron determinadas a partir del coeficiente de regresión de PEARSON, calculado en el software Microsoft Excel 2007.

V. RESULTADOS

5.1. Identificación de Morfotipos

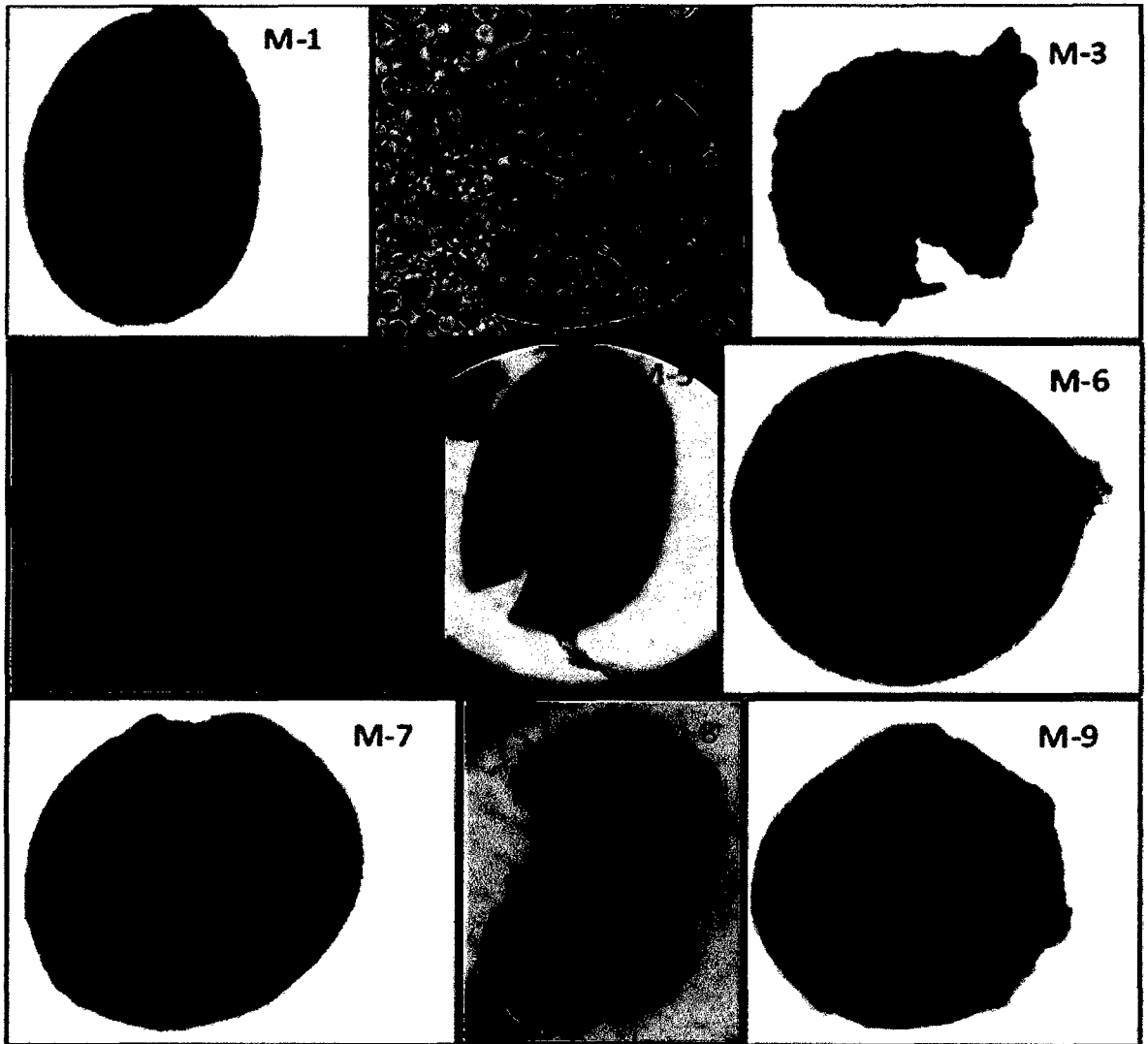


Figura 13: Morfotipos de esporas de Hongos Micorrízicos Arbusculares: Morfotipo 01, Morfotipo 02, Morfotipo 03, Morfotipo 04, Morfotipo 05, Morfotipo 06, Morfotipo 07, Morfotipo 08, Morfotipo 09. Las figuras presentan un aumento total de 400X.

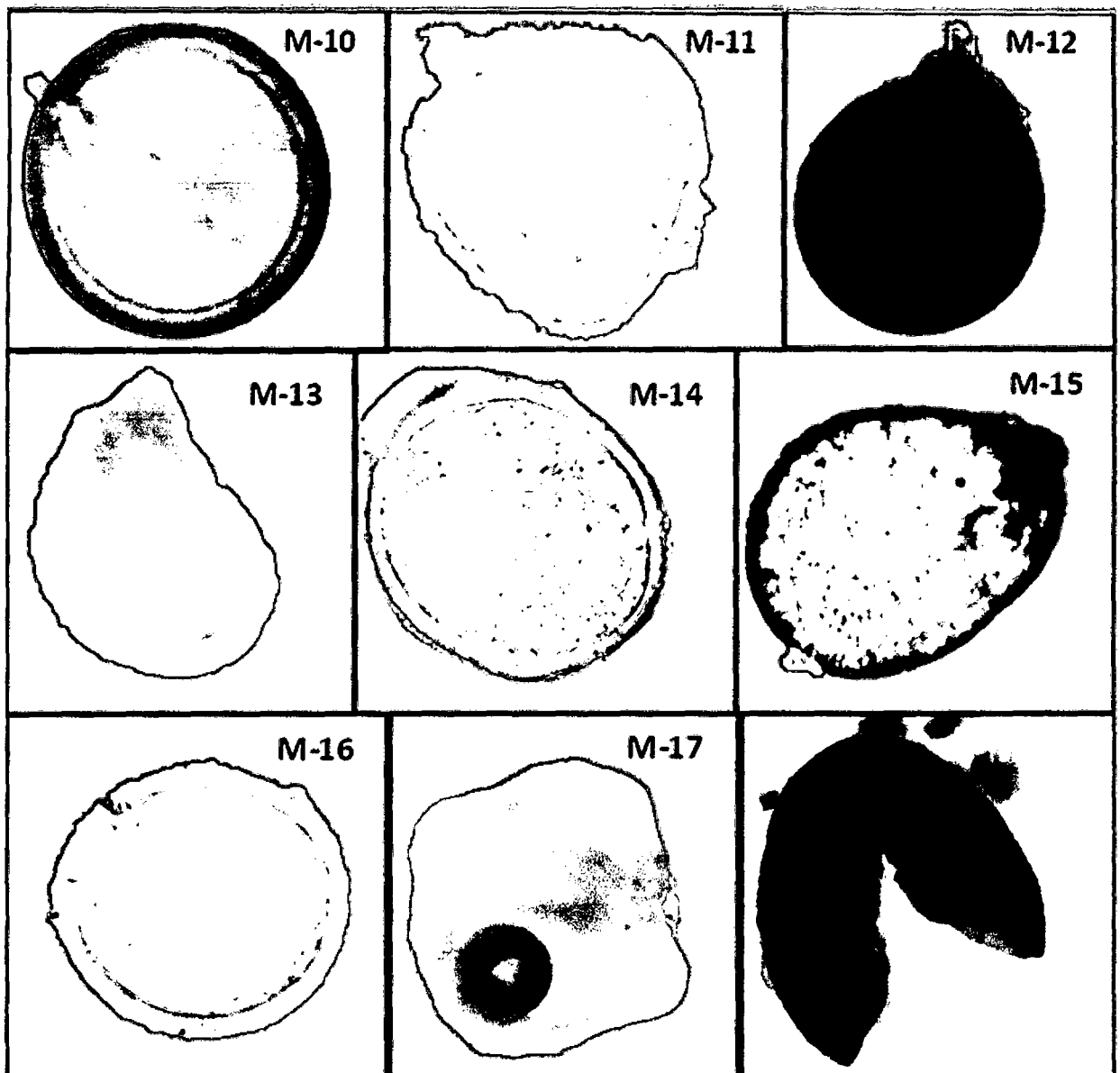


Figura 14: Morfotipos de esporas de Hongos Micorrízicos Arbusculares: Morfotipo 10, Morfotipo 11, Morfotipo 12, Morfotipo 13, Morfotipo 14, Morfotipo 15, Morfotipo 16, Morfotipo 17, Morfotipo 18. Las figuras presentan un aumento total de 400X.

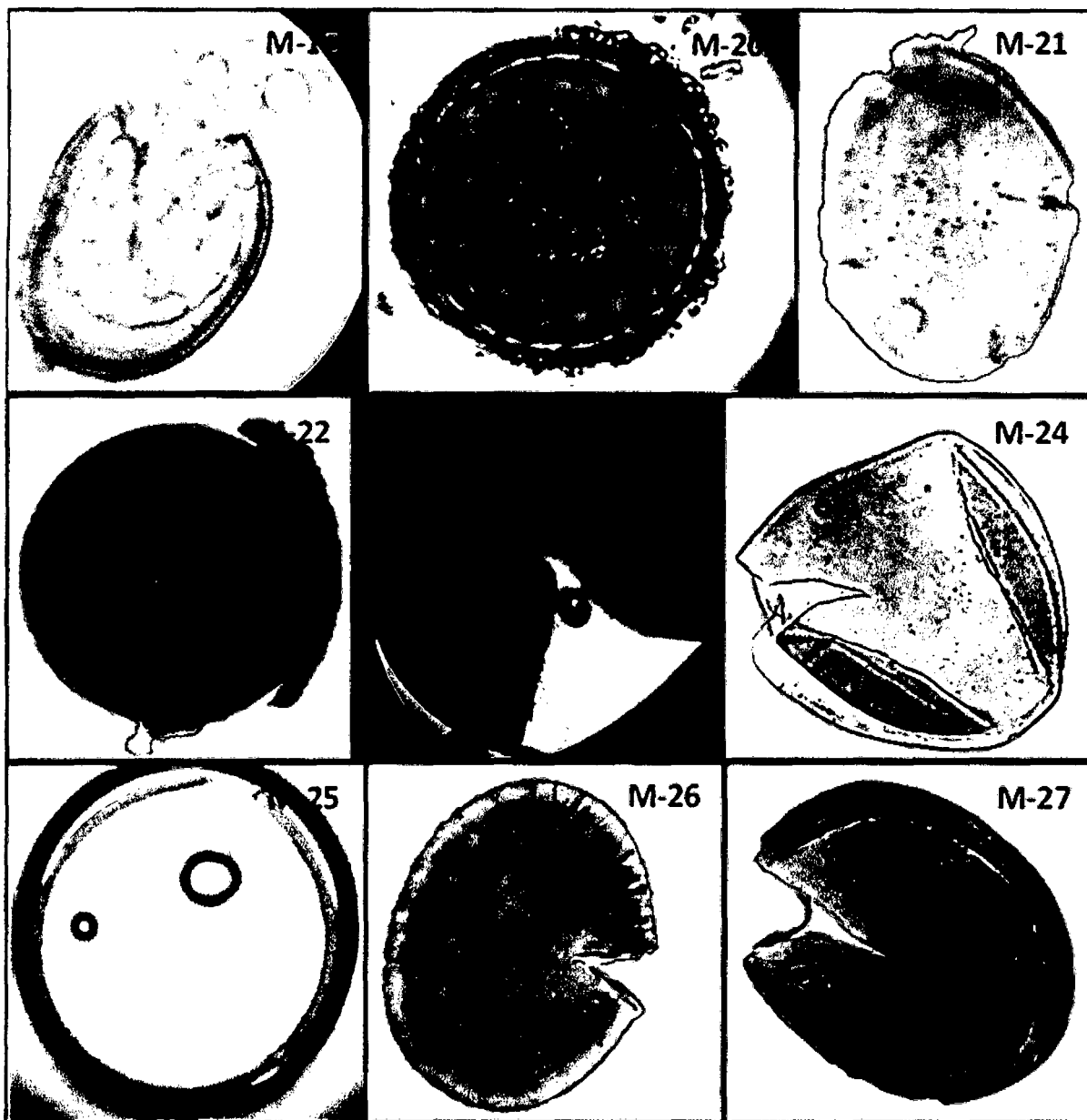


Figura 15: Morfotipos de esporas de Hongos Micorrízicos Arbusculares: Morfotipo 19, Morfotipo 20, Morfotipo 21, Morfotipo 22, Morfotipo 23, Morfotipo 24, Morfotipo 25, Morfotipo 26, Morfotipo 27. Las figuras presentan un aumento total de 400X.

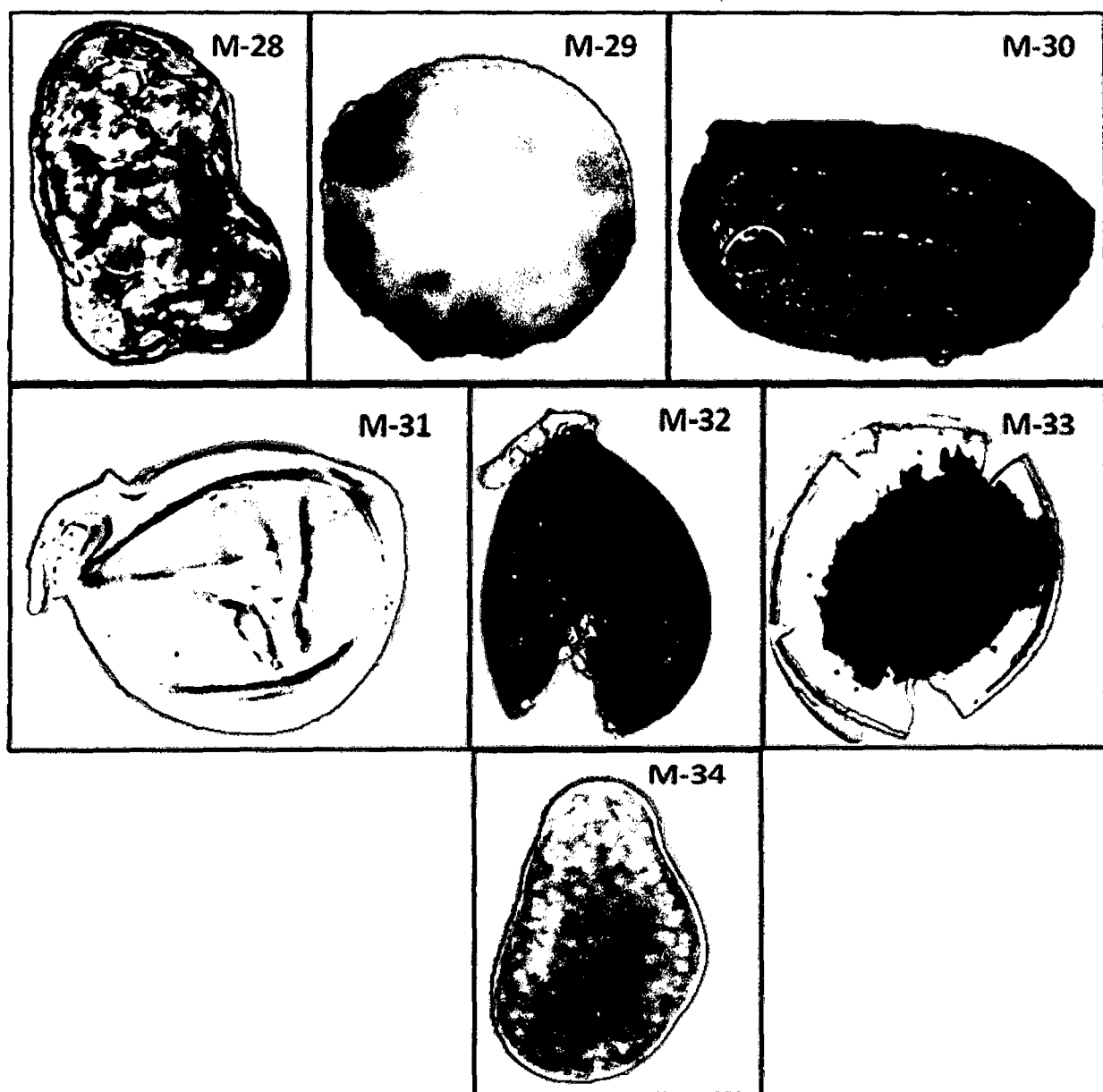


Figura 16: Morfotipos de esporas de Hongos Micorrízicos Arbusculares: Morfotipo 28, Morfotipo 29, Morfotipo 30, Morfotipo 31, Morfotipo 32, Morfotipo 33, Morfotipo 34. Las figuras presentan un aumento total de 400X.

5.2. Densidad de esporas y riqueza de morfotipos de HMA

Cuadro 6: Densidad de esporas y riqueza morfológica en 27 muestras de suelos evaluados.

PROVINCIA	LOCALIDAD	ALTITUD (m.s.n.m.)	VARIEDAD	DENSIDAD	RIQUEZA (S)
Lamas	Chirapa	800-1000	Pache	578	16
			Caturra	1035	21
			Nacional	1050	18
	Aviación	1000-1200	Pache	1080	22
			Caturra	855	25
			Nacional	758	23
	Chontalillo	1200-1400	Pache	1440	27
			Caturra	2055	26
			Nacional	1793	25
Moyobamba	Calzada	800-1000	Pache	885	23
			Caturra	810	21
			Nacional	735	19
	Los Ángeles	1000-1200	Pache	375	15
			Caturra	248	11
			Nacional	225	13
	Potrerillo	1200-1400	Pache	578	19
			Caturra	668	17
			Nacional	1193	21
Dorado	Nueva Juventud	800-1000	Pache	420	13
			Caturra	240	9
			Nacional	270	12
	Buena Vista	1000-1200	Pache	248	8
			Caturra	300	16
			Nacional	248	11
	Monte de los Olivos	1200-1400	Pache	405	17
			Caturra	353	12
			Nacional	300	17

5.3. Abundancia Relativa (AR) y Frecuencia de Aislamiento (FA)

Cuadro 7: Abundancia Relativa (AR) y Frecuencia de Aislamiento (FA) de las 34 morfotipos encontrados en las 27 muestras de suelo evaluadas.

Morfotipos (HMA)	Número de esporas	Abundancia relativa	Frecuencia de Aislamiento (%)
1	1470	7,713	92,6
2	780	4,093	81,5
3	495	2,597	85,2
4	623	3,266	70,4
5	435	2,283	63,0
6	3413	17,906	100,0
7	2085	10,941	92,6
8	188	0,984	51,9
9	525	2,755	70,4
10	758	3,975	81,5
11	83	0,433	25,9
12	278	1,456	51,9
13	248	1,299	48,1
14	548	2,873	44,4
15	105	0,551	22,2
16	1148	6,021	81,5
17	98	0,512	33,3
18	120	0,630	29,6
19	218	1,141	40,7
20	135	0,708	37,0
21	218	1,141	55,6
22	30	0,157	11,1
23	60	0,315	22,2
24	240	1,259	55,6
25	1133	5,943	81,5
26	1335	7,005	92,6
27	1508	7,910	77,8
28	180	0,945	44,4
29	345	1,810	44,4
30	60	0,315	14,8
31	38	0,197	14,8
32	83	0,433	25,9
33	30	0,157	11,1
34	53	0,275	18,5

5.4. Porcentaje de Colonización

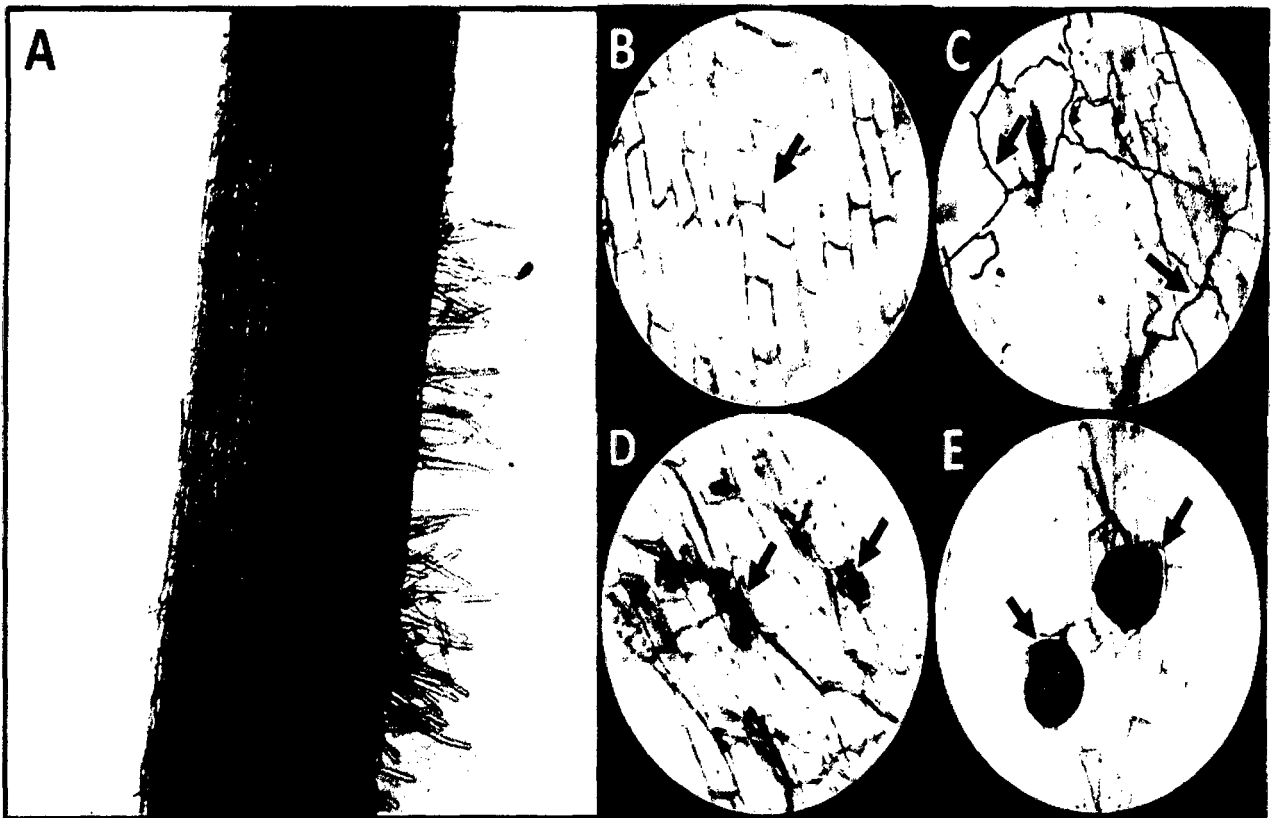


Figura 17: Simbiosis entre HMA y raíces de café; A). Estructura externa de una raíz secundaria B). Células corticales no colonizadas C). Hifas de HMA D). Arbúsculos de HMA E). Vesículas de HMA.

Cuadro 8: Porcentaje de colonización micorrízica en las provincias de Lamas, Moyobamba y el Dorado.

PROVINCIA	LOCALIDAD	ALTITUD	VARIEDAD	COLONIZACIÓN (%)
Lamas	Chirapa	800-1000	Pache	13,9
			Caturra	14,5
			Nacional	13,0
	Aviación	1000-1200	Pache	16,4
			Caturra	20,0
			Nacional	13,6
	Chontalillo	1200-1400	Pache	12,7
			Caturra	15,1
			Nacional	13,4
Moyobamba	Calzada	800-1000	Pache	8,5
			Caturra	4,7
			Nacional	4,2
	Los Angeles	1000-1200	Pache	2,3
			Caturra	2,9
			Nacional	5,2
	Potrerillo	1200-1400	Pache	2,8
			Caturra	5,3
			Nacional	7,6
Dorado	Nueva Juventud	800-1000	Pache	2,2
			Caturra	1,0
			Nacional	1,9
	Buena Vista	1000-1200	Pache	2,3
			Caturra	1,7
			Nacional	1,4
	Monte de los Olivos	1200-1400	Pache	1,6
			Caturra	0,7
			Nacional	2,3

Cuadro 9: Análisis de varianza para el porcentaje colonización micorrízica en el cultivo de café (*Coffea arabica* L.). Datos transformados (\sqrt{x}).

Fuente de variabilidad	Suma de cuadrados	G.L.	Media cuadrática	F.C.	P - valor Sig.
FA : Provincias	92,690	2	46,345	1059,026	0,000 **
FB : Altitudes	0,108	2	0,054	1,239	0,298 N.S.
FC : Variedades	0,117	2	0,058	1,333	0,272 N.S.
FA * FB	2,341	4	0,585	13,374	0,000 **
FA * FC	2,331	4	0,583	13,317	0,000 **
FB * FC	1,957	4	0,489	11,182	0,000 **
FA * FB * FC	2,657	8	0,332	7,589	0,000 **
Error experimental	2,363	54	0,044		
Total	104,564	80			

C.V. = 8.7%

Promedio = 2.4

$R^2 = 97.7\%$

N.S. No significativo; **Altamente significativo con $P < 0.05$

Cuadro 10: Prueba de Duncan ($P < 0.05$) para promedios de los niveles del Factor A: Provincias en relación al porcentaje de colonización micorrízica.

Factor A: Provincias	Descripción	Duncan ($\alpha = 0.05$)	
		Promedio	Interpretación
A1	Lamas	14,6	a
A2	Moyobamba	4,6	b
A3	Dorado	1,5	c

Cuadro 11: Prueba de Duncan ($P < 0.05$) para promedios de los niveles del Factor B: Altitudes, en relación al porcentaje de colonización micorrízica.

Factor B: Altitudes	Descripción	Duncan ($\alpha = 0.05$)	
		Promedio	Interpretación
B1	800-1000	6.0	a
B2	1000 – 1200	5,8	a
B3	1200-1400	5,6	a

Cuadro 12: Prueba de Duncan ($P<0.05$) para promedios de los niveles del Factor C: Variedades en el porcentaje de colonización micorrízica.

Factor C: Variedades	Descripción	Duncan ($\alpha = 0.05$)	
		Promedio	Interpretación
C1	Nacional	6,0	a
C2	Pache	5,8	a
C3	Caturra	5,6	a

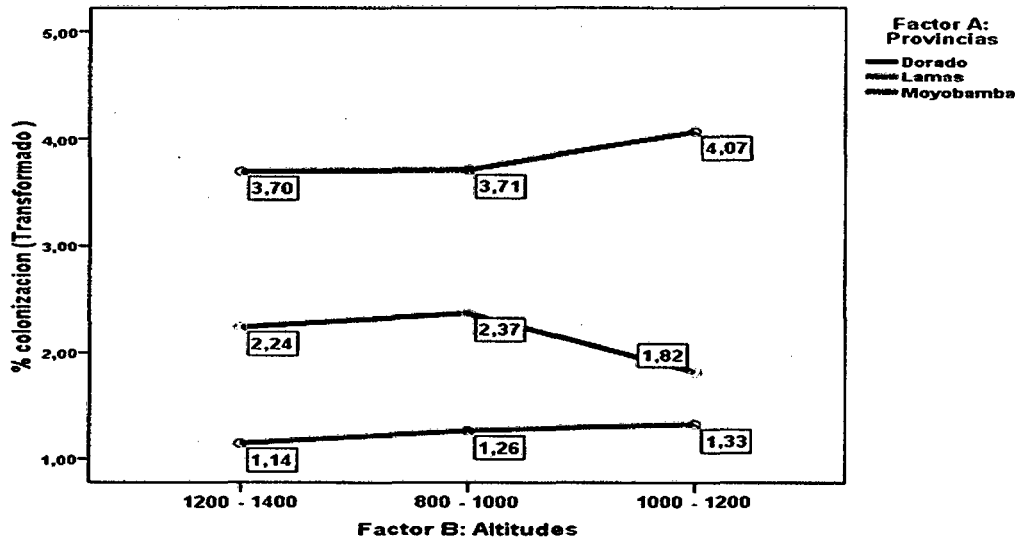


Gráfico 1: Interacción de los niveles del factor A: Provincias dentro de los niveles del factor B: Altitudes en relación al porcentaje promedio de colonización micorrízica. Datos transformados (\sqrt{x}).

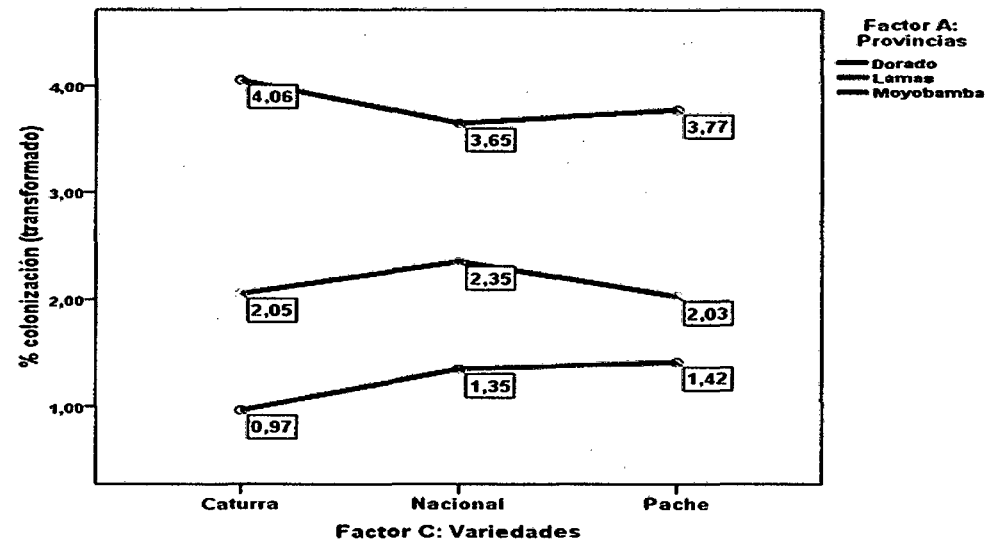


Gráfico 2: Interacción de los niveles del factor A: Provincias dentro de los niveles del factor C: Variedades en relación al porcentaje de colonización micorrízica. Datos transformados (\sqrt{x}).

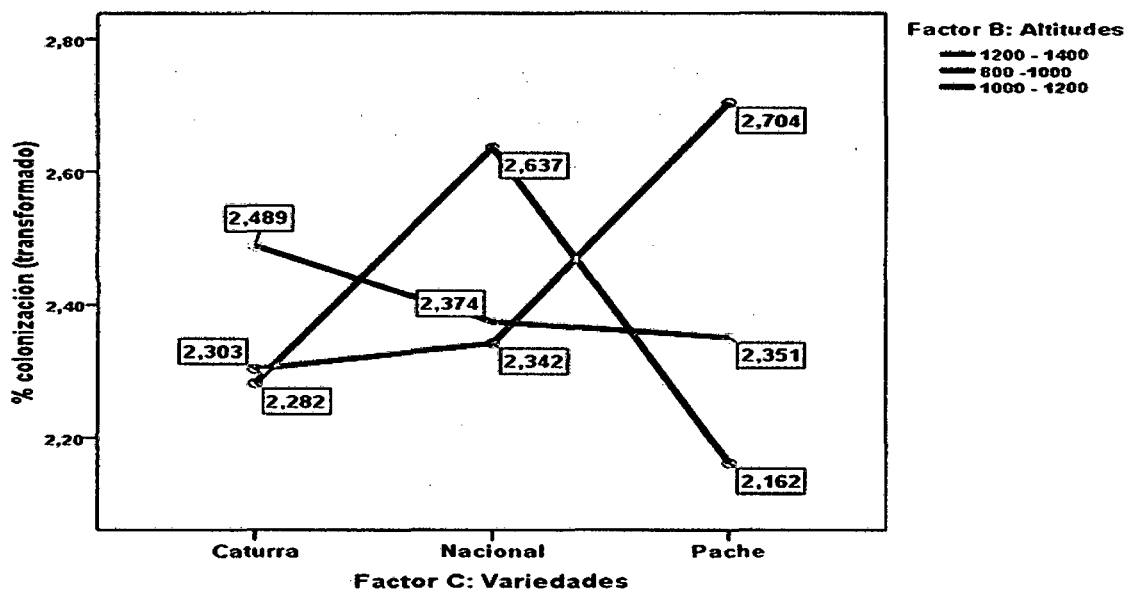


Gráfico 3: Interacción de los niveles del factor B: Altitudes dentro de los niveles del factor C: Variedades en relación al porcentaje de colonización micorrízica. Datos transformados (\sqrt{x}).

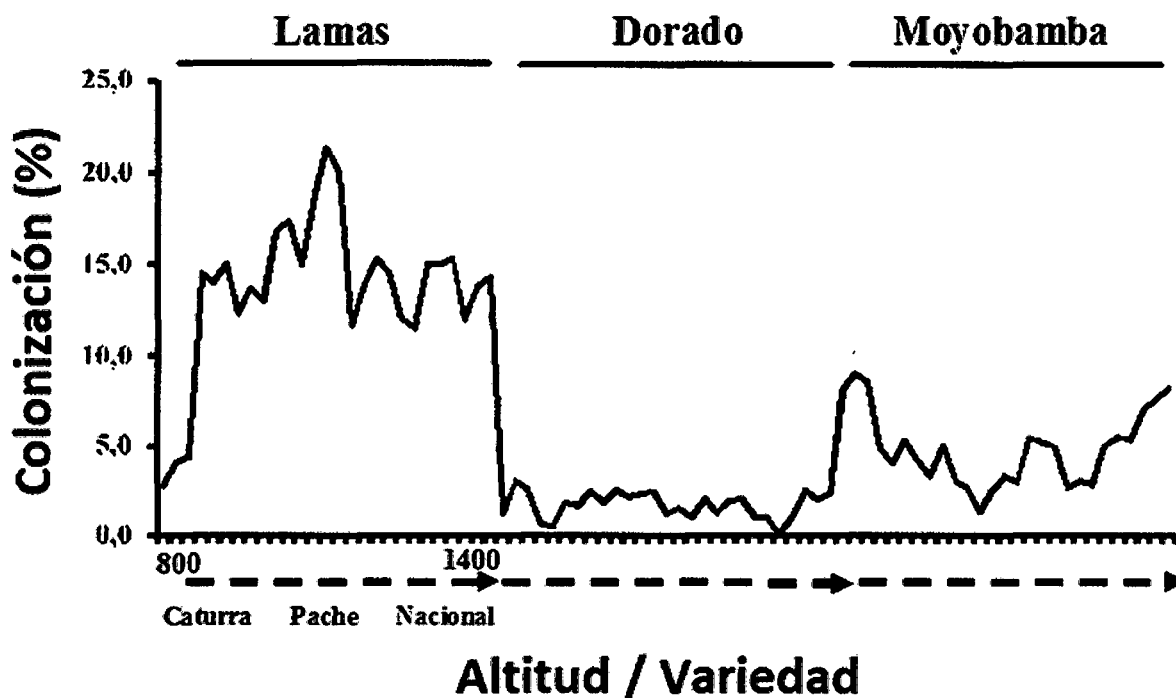


Gráfico 4: Interacción de los niveles del factor A: Provincias dentro de los niveles del factor B: Altitudes y del factor C: Variedades, en relación al porcentaje de colonización micorrízica.

5.5. Correlación entre el porcentaje de colonización (%M), parámetros ecológico y el suelo.

Cuadro 13: Análisis de correlación lineal entre el porcentaje de colonización micorrízica y parámetros ecológicos y del suelo.

Parámetros	Coefficiente de Correlación de Pearson (r)	Ecuación
Densidad de esporas (HMA)	0.74	$y = 0.009x + 0.766$
Riqueza de morfotipos (HMA)	0.76	$y = 0.839x - 7.744$
Nitrogeno (N)	-0.61	$y = -31.180x + 18.006$
Fosforo (P)	-0.57	$y = -2.549x + 18.395$
Arena (%)	0.70	$y = 0.255x - 7.707$
pH (Suelo)	-0.53	$y = -0.650x + 16.178$



VI. DISCUSIONES

6.1. Densidad de esporas y riqueza morfológica

La mayor densidad de esporas fue encontrada en la provincia de Lamas, con un máximo de 2055 esporas/10 g. de suelo en la altitud de 1200-1400 m.s.n.m.m., variedad Caturra. La provincia de Moyobamba presentó menor densidad, con un máximo de 1193 esporas/10 g. de suelo en la altitud de 1200-1400 m.sn.m.m., variedad Nacional. Y la mínima densidad fue reportada en la provincia El Dorado con 420 esporas/10 g. de suelo en la altitud 800-1000 m.s.n.m.m., variedad Pache. Coincidentemente, la mayor riqueza morfológica también se encontró en la provincia de Lamas, con un máximo de 27 morfotipos en la altitud de 1200 -1400 m.s.n.m.m., variedad Pache; seguido de la provincia de Moyobamba que presento un máximo de 23 morfotipos en la altitud de 800-1000 m.s.n.m.m., variedad Pache. La provincia de El Dorado presento la menor riqueza morfológica con un máximo de 17 morfotipos en la altitud de 1200-1400 m.s.n.m.m., variedades Pache y Nacional (cuadro 05). Bolaños *et al.*, (2000), en un estudio realizado en un área cafetalera de Colombia encontró un promedio de 250 esporas por cada 10 g. de suelo. De igual manera Cardona *et al.*, (2005), quienes investigaron la abundancia de micorrizas arbusculares en paisajes fragmentados de la Amazonía colombiana, hallaron promedios de 151 esporas por cada 10 g. de suelo. La variación en la densidad de esporas en entre los sitios evaluado podría atribuirse al proceso de formación de las esporas, su germinación y degradación (Smith, 1980), presencia de microorganismos en el suelos (Dalpe, 1989), y características físico-químicas de suelo (Koske, 1987, Johnson, *et al.*, 1991). Este resultado

también puede atribuirse a la ubicación de las zonas evaluadas indicando que la provincia de Lamas se encuentra ubicado cerca la Cordillera Escalera, área que contiene una muestra representativa de los bosques nubosos montanos tropicales, propios de la zona del norte del Perú, cuya conservación garantiza el mantenimiento y equilibrio de los servicios ambientales (agua, diversidad microbiológica, fauna, flora, semillas, biodiversidad, etc.) (<http://www.peruecologico.com>). Los cuales hacen que exista mayor proliferación de estos Hongos teniendo así mayor número de esporas y mayor diversidad de morfotipos de los Hongos Micorrizas Arbusculares.

6.2. Abundancia Relativa (AR) y Frecuencia de Aislamiento (FA)

En las 27 muestras evaluadas se identificaron un total de 34 morfotipos diferentes de Hongos Micorrízicos Arbusculares (Ver cuadro 6); siendo los morfotipos 1, 6, 7, 16, 25, 26 y 27 predominantes según el criterio establecido por Li, *et al.*, 2007, debido a que cada uno de estos morfotipos presentaron una abundancia relativa mayor a 5% ($AR > 5\%$) y una frecuencia de Aislamiento mayor a 50% ($FA > 50\%$). En base a sus características morfológicas y los descriptores proporcionados por The International Culture Collection of (Vesicular) Arbusculare Mycorrhizal Fungi (<http://invam.caf.wvu.edu/>), estos 07 morfotipos predominantes pertenecen a los géneros *Glomus* y *Aucalospora*. López, *et al.*, 1983, en un estudio realizado en una región cafetalera de Brasil, identificó un total de 22 especies de HMA, siendo los géneros *Glomus* y *Aucalospora* los más frecuentes. Estos mismos géneros también fueron los más predominantes en otras regiones cafetaleras de Venezuela, Colombia y México (Riess y Sanvito, 1985; Toro-García, 1987; Cruz, 1989). Otros géneros

de HMA tales como *Scutellospora*, *Gigaspora* y *Sclerocystis* también han sido descritos en diferentes fincas cafetaleras (Colozzi-Filho y Cardoso, 2000).

6.3. Simbiosis Micorrízica

En las raíces de café (*Coffea arabica* L.) evaluadas, se encontraron todas las estructuras intra-radiculares de los Hongos Micorrízicos Arbusculares (Hifas, Vesículas y Arbúsculos); este resultados son similares con los resultados obtenidos en otras investigaciones en café (Lopes, *et al.*, 1983; Balota y López 1996; Pavan, *et al.*, 1999; Colozzi-Filho y Cardoso 2000; Theodoro, *et al.*, 2003; Muleta, *et al.*, 2007), ver figura 16.

El análisis de varianza (cuadro 9) indica que la variable porcentaje de colonización micorrízica se encuentra afectada por las fuentes de variabilidad del Facto A (Provincias), y las interacciones FA*FB, FA*FC, FB*FC y FA*FB*FC debido a que presentan una alta diferencia significativa ($P < 0.05$), por lo que se acepta la hipótesis alterna para estos factores. Así mismo, el efecto que han ejercido los tratamientos en estudio sobre el porcentaje de colonización micorrízica (variable dependiente) es explicada altamente por el Coeficiente de Determinación (R^2) en 97.7 %; el Coeficiente de variabilidad (C.V.) con 8.7%, implica una desviación estándar muy pequeña que se encuentra dentro del rango de aceptación para trabajos de investigaciones de esta naturaleza (Calzada, 1982).

La prueba de Duncan ($P < 0.05$) para los promedios de los niveles del factor A (Provincias) en relación al porcentaje de colonización micorrízica mostraron

diferencias significativas, siendo que el nivel A1 (Lamas) reportó el mayor promedio con 14.6% superando estadísticamente a los niveles A2 (Moyobamba) y A3 (El Dorado) quienes reportaron promedio de 4.6% y 1.5% respectivamente.

La prueba de Duncan ($P < 0.05$) para los promedios de los niveles de los factores B: Altitudes y C: Variedades no detectaron diferencias estadísticas entre ellos (cuadros 11 y 12), sugiriendo que las variedades Pache, Caturra y Nacional, y altitudes que van desde 800 a 1400 m.s.n.m.m., no tiene una influencia directa en la colonización micorrízica en el cultivo de café en la región San Martín. Resultados similares también fueron observados por AL-AREQI, *et al.*, (2013), cuando evaluó plantaciones de café que se encontraban ubicadas entre 1355 a 2348 m.s.n.m.m.

En la interacción de los niveles del factor A: Provincias dentro de los niveles del factor B: Altitudes (Gráfico 1) se observó que los mayores promedios de colonización micorrízica se obtuvieron en la Provincia de Lamas en combinación con los tres niveles de altitud, con 13.7% entre 1200–1400 m.s.n.m.m, 13.8% entre 800–1000 m.s.n.m.m y 16.6% entre 1000-1200 m.s.n.m.m.

La interacción de los niveles del factor A: Provincias dentro de los niveles del factor C: Variedades en el porcentaje de colonización micorrízica (gráfico 2) reportó que las tres variedades obtuvieron los mayores porcentajes de colonización en la Provincia de Lamas con 16.5% en caturra, 13.3% en

Nacional y 14.2% en Pache.

La interacción de los niveles del factor B: Altitudes dentro de los niveles del factor C: Variedades (grafico 03) determinó que el mayor porcentaje de colonización micorrízica fue alcanzado a una altitud de 800–1000 m.s.n.m.m. en la variedad Pache con 7.3%, seguido de Nacional con 5.4% a una altitud de 1200 – 1400 m.s.n.m.m., y la variedad Caturra a una altitud de 1000 – 1200 m.s.n.m.m.

La interacción de los niveles del factor A: provincias dentro de los niveles del factor B: Altitud y del factor C: Variedad (Grafico 4) muestra que el porcentaje de colonización está influenciado únicamente por las provincias, no mostrando influencia directa de las altitudes y variedades en la colonización micorrízica.

Probablemente la diferencia significativa encontrada entre provincias, podría estar relacionado con el pH y la fertilidad del suelo que presentan las zonas muestreadas; debido a que algunos autores mencionan que el grado de micorrización o colonización en el sistema radicular de la planta se ve influenciada en gran medida por el pH y la fertilidad del suelo (Barea, J. M. Y. Azcón-Aguilar, 1982, Dávila, *et al.*, 2009).

El análisis físico-químico del suelo (Cuadro 3), muestra que las provincias de Lamas y Moyobamba presentan pH similares que van desde 3.22 a 4.51 y 3.26 a 4.13 respectivamente, considerados como suelos extremadamente ácidos a fuertemente ácidos según la clasificación propuesta por Rioja Molina, 2002.

Entretanto, la provincia de El Dorado mostro pH que va desde 4.39 a 7.01, considerados como suelos muy fuertemente ácidos a neutros. Barea y Jeffries, 1994 citado por León, 2006, argumentan que los Hongos Micorrízicos Arbusculares tienen amplia adaptación a varios tipos de pH ya que los podemos encontrar en suelos con pH que van desde 2.7 hasta 9.2; teniendo respuestas positivas a pH ácidos como alcalinos dependiendo de las especies o géneros. La colonización micorrízica en café mostró tener una respuesta positiva a pH bajos, como se muestra en la provincia de Lamas, donde a menores valores de pH, mayores porcentajes de colonización (14.7%) y a mayores valores de pH, menores porcentajes de colonización como en la provincia de El Dorado (1.7%). Sin embargo, la provincia de Moyobamba a pesar de presentar un pH similar al de Lamas, mostró un menor porcentaje de colonización (4.8%), que podría ser atribuido a otros factores bióticos y abióticos presentes en esta fincas cafetaleras. Estos resultados guardan relación con los observados en el cultivo de café, donde suelos que presenta pH que varían entre 2.5 a 4.5 presentan mayores porcentajes de colonización en sus raíces.

Las diferentes concentraciones de fósforo (P) entre provincias, probablemente también tengan influencia en el grado de colonización micorrízica. La provincia El Dorado que mostró las más altas concentraciones de fósforo (5.2 a 7.9 ppm) presentó los menores porcentajes de colonización micorrízica. Entretanto, las provincias de Lamas y Moyobamba que presentaron las menores concentración de fósforo (3.0 a 4.3 y 2.8 a 4.5 ppm, respectivamente) mostraron mayores porcentajes de colonización micorrízica. Estos resultados

son evidenciados por argumentos de varios autores; quienes mencionan que a medida que se disminuye el fósforo en el suelo, el porcentaje de colonización se incrementa (Pérez, *et al.*, 2011).

La textura de suelo también tiene una influencia directa en el grado de colonización micorrízica, varios estudios mostraron que cultivos instalados en suelos con mayores concentraciones de arena experimentan mayor grado de colonización micorrízica. Esta relación también se ve reflejada en café, donde las provincias de El Dorado que presentó menores concentraciones de arena (42% en promedio), también presenta menos índices de colonización micorrízica, caso contraria en las provincias de Lamas y Moyobamba que tienen mayores concentraciones de arena y mayores porcentajes de colonización micorrízica.

El cuadro (13) muestra que existen correlaciones entre el porcentaje de colonización (Trouvelot, *et al.*, 1987) y parámetros ecológicos y del suelo, sugiriendo que el pH, N, P, % de arena, densidad de esporas y riqueza morfológica tienen influencia en el porcentaje de colonización micorrízica en el cultivo de café.

La colonización micorrízica en las provincias de Moyobamba y El Dorado son muy bajas (2.3% a 8.5% y 0.7% a 2.3%, respectivamente); mientras que la provincia de Lamas la colonización micorrízica varía entre muy baja a baja (12.7% a 20.0%) según la clasificación propuesta por Zangaro, *et al.*, (2002) ver figura 17 Estos porcentajes de colonización obtenidos son bajos en

comparación con los reportados por Colozzi, *et al.*, 2000, quien encontró un 68% de colonización micorrízica en café, variedad Caturra y por López, 2012 quien encontró hasta un 100% de micorrización en raíces de café (*Coffea arabica* L.) cultivado bajo sistema convencional y orgánico.

VII. CONCLUSIONES

- 1.** La provincia de Lamas presento los más altos valores de densidad de esporas (2055 esporas/10 gramos de suelo) y riqueza morfológica (27 morfotipos /muestra evaluada) seguido de la provincia de Moyobamba y el Dorado.
- 2.** El mayores porcentaje de colonización se encontró en la provincia de Lamas (12.7-20.0%) seguido de Moyobamba (2.3-8.5 %) y El Dorado (0.7-2.3%); sin embargo estos porcentajes de colonización varían entre muy bajo a bajos según la escala de clasificación del porcentaje de colonización.
- 3.** Las variables estudiadas, altitud y variedad, no mostraron tener una influencia significativa en la colonización micorrízica en el cultivo de café; su incidencia está directamente correlacionada con las características físico-químico del suelo y parámetros ecológicos de las zonas en estudio.
- 4.** Las características ecológicas (Densidad de esporas y Riqueza morfológica) y físico-químicas del suelo (pH, N, P y % de arena) cumplen una función importante en determinar el porcentaje de colonización micorrízica en cultivo de café en la región San Martín.

VIII. RECOMENDACIONES

- 1.** Realizar evaluación de los Hongos Micorrízicos Arbusculares, en otras provincias para tener un diagnóstico más amplio sobre la dinámica funcional de estos microorganismos (HMA) en el cultivo de café (*Coffea arabica* L.) dentro la región San Martín.
- 2.** Seguir realizando estudios de la diversidad natural de HMA para usarlos posteriormente como inoculantes en la producción comercial de plántulas de café, llevarlos a campo definitivo y observar el comportamiento y beneficio de estos microorganismos.
- 3.** Realizar investigaciones de identificación de géneros y especies de los Hongos Micorrizas Arbusculares en el cultivo de café y su potencial como biofertilizantes.
- 4.** Realizar estudios del mismo trabajo incorporando más variables de estudio, tales como Temperatura, Radiación, H° Relativa, Pendiente, Nivel Freático, etc.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Agrobanco, área de desarrollo del cultivo de café, (2007). Cogido desde internet.
2. Al-Areqi, Chliyen, M. Sghir, F. Ouazzani, A. Benkirane, R. y Douria, A. Diversity of arbuscular micorrhizal fungi in the rhizosphere of *Coffe Arabica* in the Republic of Yemen.
3. Alarcón, A y Ferrera-Cerrato, R. (2003). Biotecnología de los hongos micorrízicos arbusculares. Microbiología de suelos. Carretera México- Texcoco. 7p.
4. Alvarado, M. y Rojas, G. (2007). El cultivo y beneficio del café. Universidad Nacional a Distancia (EUNED). San José, Costa Rica, 184 p.
5. Asociación Nacional del Café, (ANACAFE) 1988. Manual de caficultura. Guatemala.
6. Behera, M.D., S.P.S. Kushwaha., P.S. Roy. (2005). Rapid assessment of biological richness in a part of Eastern Himalaya: an integrated three-tier approzh. Forest Ecology and Management 207. 363-384.
7. Bolaños, B. M. M., Rivillas, C. A., Suárez V. S. (2000). Identificación de micorrizas arbusculares en suelos de la zona cafetera colombiana.
8. Blanco, F y Salas, E. (1996). Micorrizas en la agricultura: contexto mundial e investigación realizada en Costa Rica. X Congreso nacional agronómico/II Congreso de suelos. Escuela de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional. Costa Rica. p. 69.

9. Cardona, G., Arcos, A., Murcia., U. (2005). Abundancia de actinomicetos y micorrizas arbusculares en paisajes fragmentados de la Amazonía colombiana. Colciencias. Bogotá, Colombia. 128 p.
10. Colozzi-Filho, A. y Cardoso, E. J. B. N. (2000). Deteccao de fungos micorrizicos arbusculares em raízes de cafeeiro e de crotalaria cultivada na entrelinha. Pesquisa Agropecuaria Brasileira 35, 2033–2042.
11. Davis, A. P., Govaerts, R., Bridson, D. M. y Stoffelen, P. (2006). An annotated taxonomic conspectus of the genus *Coffea* (Rubiaceae). Botanical Journal of the Linnean Society 152, 465–512.
12. Dávila, L., Ramos, C.J., Rosales, C.M. (2009). Multiplicación de hongos micorrizicos arbusculares nativos de cultivo de cacao (*theobroma cacao*) en maíz (*zea mays*) bajo distintos tratamientos agronómicos.
13. Da Silva, J. P. (2004). Comunidades de fungos micorrízicos arbusculares associadas à pupunha e ao cupuaçu cultivados em sistemas agroforestal e em monocultivo na Amazônia central. Tesis de Doctor en agronomía. São Paulo, Brasil, CIP. 35 p.
14. Diz, R. (2008). Métodos para evaluar normalidad y homogeneidad de varianza. Relación con el tamaño de muestra. Universidad de Granma. Bayamo. Cuba.44p.
15. Duchicela, J. y González, M. del C. (2003). La Micorriza Arbuscular en el Contexto de la Agricultura Sustentable. Monografía CEINCI – 02- 03. 19p
16. Font, H. (2007). Estudio de precisión en la variable producción de huevos en gallinas White Leghorn. Tesis al título de Máster en Producción Animal. 84 p.

17. Hermard, C., Labaca, C., Jeres, G., Sandoval, P y Ulloa, A. (2002). Aspectos generales de las Micorrizas: Efecto de las micorrizas sobre la nutrición mineral de las plantas. 10 p.
18. Junta Nacional del Café. (2013). Producción y Exportación del cultivo de café.
19. Krebs, J. Ch. (1985). Ecología. Estudio de la distribución y abundancia. 2ª. Edición. Harla, S. A. México.
20. León, D. (2006). Evaluación y caracterización de micorrizas arbusculares asociadas a *Manihot sculenta* sp. (Yuca) en dos regiones de la amazonía colombiana. Tesis Mag. Sc. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia. 125 p.
21. Litza Tatiana López Díaz. (2012). Producción de raíces finas y micorrización en café (*Coffea arabica* L.) cultivado bajo sistema convencional y orgánico en turrialba, costa rica.
22. Li, LF. Li, T., Zhao, ZW. (2007). Differences of arbuscular mycorrhizal fungal diversity and community between a cultivated land, an old field, and a never-cultivated field in a hot and arid ecosystem of southwest China. *Mycorrhiza* 17:655-665.
23. Lindgren, P.M.F., T.P. Sullivan. (2001). Influence of alternative vegetation management treatments on conifer plantation attributes abundance, species diversity, and structural diversity. *Forest Ecology and Management* 142. 163-182.
24. Ministerio de Agricultura y Ganadería-Dirección Regional Huetar Norte. (2002).
25. Minagri. (2014). Ministerio de Agricultura y Riego, Dirección General de Competitividad Agraria, "Plan Nacional de Renovación de cafetales".

26. Montilla, E. (2010). Caracterización de la micorrización “nativa” en plantaciones de cafeto en diferentes condiciones edafoclimáticas. Disponible, Septiembre 2010.
27. Ordoñez, C. (2009). Interacción sinérgica entre hongos formadores de micorrizas arbusculares-*pseudomonas fluorescens* y su relación en la nutrición vegetal de fósforo. Tesis de maestría en microbiología. Universidad Nacional de Colombia.
28. Onaindia, M.I., Dominguez, I. Albizu, C., Garbisu, I., Amezaga. (2004). Vegetation diversity and vertical structure as indicators of forest disturbance. Forest Ecology and Management, 341-354. Pitkänen, S., 1998. The use of diversity indices to assess the diversity of vegetation in managed boreal forests. Forest Ecology and Management 112:121-137
29. Padrón, E. (1996). Diseños experimentales con aplicación a la agricultura y la ganadería. Ed. Trillas. México. 215 p
30. Paillacho, F.I.C. (2010). Evaluación de la efectividad de las micorrizas Arbusculares nativas sobre el desarrollo y estado Nutritivo del palmito (*bactris gasipaes* hbk) en etapa de vivero, En santo domingo de los Tsáchilas.
31. Peña-Vanegas C. P., Cardona G. I., Mazorra, Argelles J. H. y Arcos A. L. (2006). Micorrizas arbusculares de la Amazônia colombiana. Catalogo ilustrado. Instituto Amazónico de investigaciones científicas SINCHI.
32. Pérez, C., Alexander Dr., Rojas, S., Johanna M.Sc., Montes,V. Donicer. (2011). Hongos formadores de micorrizas arbusculares: una alternativa biológica para la sostenibilidad de los agroecosistemas de praderas en el caribe colombiano. Rev. Colombiana cienc. Anim.

33. Pérez, A., Verbel, M. (2010). Evaluación de la colonización de micorrizas arbusculares en *Bothriochloa pertusa* (L). A. Camus. Revista MVZ. Disponible en: URL: <http://www.scielo.org.co/pdf/mvz/v15n3/v15n3a04.pdf>.
34. Phillips, J. y Hayman. (1970). Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular fungi for rapid assessment of infection. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 55:158-161.
35. Robles, C., Robles-Martínez, ML., Monrroy-Díaz, FB. (2008) Crecimiento y nutrición del maguey mezcalero (*agave angustifolia* Haw.) bajo condiciones de micorrización arbuscular.
36. Robles-Martínez, M. de L., C. Robles, F. Rivera-Becerril, Ma. del P. Ortega-Larrocea y L. Pliego-Marín. (2013). Inoculación con consorcios nativos de hongos de micorriza arbuscular en *Agave angustifolia* Haw. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 6: 1231-1240.
37. Sally E. Smith, David Read. The symbionts forming arbuscular mycorrhizas. (2008). Pages 13-41.
38. Smith, S.E. y Read, D.J. (1997) *Mycorrhizal Symbiosis*, Academic Press, London.
39. Smith S. 1980. Mycorrhizas of autotrophic higher plants. *Biol. Rev.* 55: 475-510.
40. Schubler A., Schwarzott D., Walker C. (2001). A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. *Mycol. Res.* 105: 1413-1421
41. Taylor, T. N., Remy, W., Hass, H., y Kerp, H. (1995). Fossil arbuscular mycorrhizae from the Early Devonian. *Am. J. Bot.*

42. Theodoro, V. C. A., Alvarenga, M. I. N., Guimara, R. J. y Junior, M. M. (2003). Carbono da biomassa microbiana e micorriza en solo sob mata nativa e agroecossistemas cafeeiros. *Acta Scientiarum: Agronomy* 25, 147–153.
43. Trejo, D., Ferrera-Cerrato, Roberto García, Lucía Varela, Liliana Lara, Y Alarcón, (2011). Efectividad de siete consorcios nativos de hongos micorrízicos arbusculares en plantas de café en condiciones de invernadero y campo. *Revista Chilena de Historia Natural*.
44. Trouvelot, A., Kough, J.L. y Gianinazzi-Pearson, V. (1986) "Mesure du taux de mycorrhization d'un systeme racinaire recherché de methods d'estimation ayant une signification fonctionnelle, In: Gianinazzi-Pearson, V. and Gianinazzi, S. (eds). *Physiological and Genetical Aspects of mycorrhiza*". INRA Publications, Paris, pp: 217-221.
45. Vega, M.V.M. (2011). "Identificación de micorrizas vesícula – arbusculares en especies agrícolas y forestales en la zona de Tingo María". Tesis UNAS.
46. Shaw, P.J.A. (2003). *Multivariate Statistics for the Environmental Sciences*. Arnold Publishers.30-39.
47. Zangaro, W. Nizisaki, SMA., Domingos, JCB., Nakano, EM. (2002) arbuscular mycorrhizal in native Woody species of Tibagi River Basin, Paraná.
48. Wiensczyk, A. M. S., Gamiet, D.M., Durall, M. D., Jones, S. W., Simard. (2002). Ectomycorrhizae and forestry in British Columbia: A summary of current research and conservation strategies. *B.C. Journal of Ecosystems and Management*. Volume 2, Number 1:1-20
49. <http://www.peruecologico.com.pe/esp-cordilleraescalera.htm>

RESUMEN

El trabajo de investigación tuvo como objetivo determinar la diversidad de Hongos Micorrízicos Arbusculares Nativos y su potencial Micorrízico en el cultivo de café (*Coffea arabica* L.) en diferentes condiciones agroecológicas de la región San Martín", para esto se seleccionaron fincas cafetaleras en tres provincias (Lamas, Moyobamba y El Dorado) en cada finca se ubicaron tres altitudes (A1= 800-1000, A2= 1000-1200, A3= 1200-1400 m.s.n.m.m.) utilizando tres variedades de café (Pache, Caturra y Nacional) de las cuales se colectaron muestras biológicas de suelo y raíces, a cada muestra de suelo se realizó un análisis físico-químico, también se realizó la evaluación de parámetros ecológicos (Densidad de esporas, riqueza morfológica, abundancia relativa, y frecuencia de aislamiento). En las muestras de raíces se evaluó el porcentaje de colonización de Hongos Micorrizas Arbusculares Nativos y finalmente se hizo un análisis de correlación lineal del porcentaje de colonización, parámetros ecológicos y el suelo.

En los resultados, la provincia de Lamas presento los más altos valores de densidad de esporas (2055 esporas/10 gramos de suelo) y riqueza morfológica (27 morfotipos /muestra evaluada) además se encontró el mayor porcentaje de colonización (12.7-20.0%) en las raíces de plantas de café; por otro lado se encontró que existe correlación positiva entre el porcentaje de colonización y los parámetros ecológicos, pero hay correlación negativa con el pH, Nitrógeno y Fosforo del suelo.

Palabras Claves: Hongos Micorrízicos, esporas, variedades, altitudes.

SUMMARY



The research aimed to determine the diversity of mycorrhizal fungi and mycorrhizal Arbusculares Native potential in growing coffee (*Coffea arabica* L.) in different agro-ecological conditions of the region San Martin "to this coffee farms they were selected in three provinces (Lamas, Moyobamba and El Dorado) on each farm three altitudes (A1= 800-1000, A2=1000-1200, A3=1200-1400 m.s.n.m.m) were located using three varieties of coffee (Pache, Caturra and National) of which biological samples of soil and roots were collected, each soil sample a physical-chemical analysis was performed, evaluation of ecological parameters (density of spores, morphological richness, relative abundance and frequency of isolation) was also performed. to the samples Root was evaluated the percentage of colonization of fungi arbuscular mycorrhizal native and finally was made a linear correlation analysis of the percentage of colonization, ecological parameters and soil.

In the results, the province of Lamas presented the highest values of density of spores (2055 spores/10 g soil) and morphological wealth (27 morphotypes/sample evaluated) also the highest percentage of colonization (12.7-20.0%) in the roots of coffee plants; on the other hand it was found that there is positive correlation between the percentage of colonization and ecological parameters, but negatively correlated with pH, soil nitrogen and phosphorus.

Keywords: Mycorrhizal fungi, Spores, Varieties and Altitudes.